

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI



SPERM KONSANTRASYONUNUN BELİRLENMESİNDE
MAKLER KAMARASI VE GELİŞTİRİLMİŞ NEUBAUER
HEMOSİTOMETRESİ İLE YAPILAN SAYIMLARIN
TUTARLILIK DÜZEYLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Derya TANRIÖVER

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Fatma Bahar SUNAY

BALIKESİR-2017

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SPERM KONSANTRASYONUNUN BELİRLENMESİNDE
MAKLER KAMARASI VE GELİŞTİRİLMİŞ NEUBAUER
HEMOSİTOMETRESİ İLE YAPILAN SAYIMLARIN
TUTARLILIK DÜZEYLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Derya TANRIÖVER

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Mehmet Faruk AYDIN
Balıkesir Üniversitesi
Başkan

Doç. Dr. Berrin AVCI
Uludağ Üniversitesi
Üye

Yrd. Doç. Dr. Fatma Bahar SUNAY
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Fatma Bahar SUNAY

Bu araştırma; Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2016/107 nolu proje ile desteklenmiştir.

BALIKESİR-2017



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ KABUL VE ONAY

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan

“SPERM KONSANTRASYONUNUN BELİRLENMESİNDE MAKLER KAMARASI
VE GELİŞTİRİLMİŞ NEUBAUER HEMOSİTOMETRESİ İLE YAPILAN
SAYIMLARIN TUTARLILIK DÜZEYLERİ”

başlıklı tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 25 /12/ 2017

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Mehmet Faruk AYDIN
Balıkesir Üniversitesi
Başkan

Doç. Dr. Berrin AVCI
Uludağ Üniversitesi
Üye

Yrd. Doç. Dr. Fatma Bahar SUNAY
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Yüksek Lisans Tezi, sınav jüri komisyonu tarafından imzalanarak
~~26 /12/2017~~ tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI
Enstitü Müdürü V.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlamasından yazımına kadar bütün aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tezde kullanılmış olan bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.(25/12/2017)

Derya TANRIÖVER



TEŐEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin ve tez çalışmam boyunca ilgi, sevgi, sabır ve anlayış ile hiçbir zaman yardımını esirgemeyen, birlikte çalışmaktan gurur duyduğum değerli danışman hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Yrd. Doç. Dr. Fatma Bahar SUNAY'a, tezin istatistiksel çalışmalarına olan yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Mesut SAÇKES'e, eğitimim sırasında destek ve hoşgörüsünü esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Mehmet Faruk AYDIN'a, her zaman desteğini ve yardımını büyük bir özveri ve samimiyetle eksik etmeyen değerli eşim İlker TANRIÖVER'e ve aileme, laboratuvar çalışmalarım boyunca yardımlarından dolayı androloji laboratuvarı çalışma arkadaşım Elif DURMUŐ'a ve yüksek lisans arkadaşlarıma bütün kalbimle teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----|
| ÖZET | iv |
| ABSTRACT | v |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | vi |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | vii |
| TABLolar DİZİNİ | x |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Erkek Üreme Sistemi..... | 3 |
| 2.1.1. Skrotum..... | 4 |
| 2.1.2. Testis..... | 6 |
| 2.1.3. Epididimis..... | 12 |
| 2.1.4. Duktus (Vas) Deferens..... | 13 |
| 2.1.5. Üretra..... | 14 |
| 2.1.6. Seminal Vezikül..... | 15 |
| 2.1.7. Prostat..... | 16 |
| 2.1.8. Bulboüretral (Cowper) Bez..... | 18 |
| 2.1.9. Penis..... | 19 |
| 2.2. Spermatogenez..... | 23 |
| 2.2.1. Mitoz Bölünme Aşaması..... | 23 |
| 2.2.2. Mayoz Bölünme Aşaması..... | 24 |
| 2.2.3. Spermiyogenez..... | 25 |
| 2.3. Spermatogenezin Hormonal Kontrolü..... | 27 |
| 2.4. Spermin Taşınması ve Olgunlaşma Süreci..... | 29 |
| 2.5. Ejakulat (Semen) Oluşumu..... | 30 |
| 2.6. Erkek İnfertilitesi ve Değerlendirilmesi..... | 31 |
| 2.7. Semen Analizi..... | 33 |
| 2.7.1. Semen Örneğinin Toplanması..... | 35 |
| 2.7.2. Semen'in Makroskopik Değerlendirilmesi..... | 37 |
| 2.7.3. Semen'in Mikroskopik Değerlendirilmesi..... | 41 |
| 2.8. Semen ve Sperme Ait Özel Testler..... | 60 |
| 2.8.1. Anti-Sperm Antikor (ASA) Testi..... | 60 |

| | |
|---|-----------|
| 2.8.2. Sperm-Servikal Etkileşim Testleri..... | 61 |
| 2.8.3. Sperm Penetrasyon Testi (SPA)..... | 61 |
| 2.8.4. Bilgisayar Yardımlı Sperm Değerlendirme Sistemleri..... | 62 |
| 2.8.5. Sperm Kromatin Yapısının Değerlendirilmesi..... | 62 |
| 2.8.6. Daha Az Kullanılan Özel Testler..... | 62 |
| 2.9. Semen Analizinde Bazı Değişkenler İçin Kullanılan Terminoloji..... | 63 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM..... | 64 |
| 3.1. Hasta Örneklerinin Temin Edilmesi ve Gruplandırılması..... | 64 |
| 3.2. Semen Analizi..... | 65 |
| 3.3. Sperm Konsantrasyonu Belirleme Metotları..... | 65 |
| 3.3.1. Makler Sperm Sayma Kamarası..... | 65 |
| 3.3.2. Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre..... | 67 |
| 3.4. Değerlendirme ve İstatistiksel Analizler..... | 72 |
| 4. BULGULAR..... | 73 |
| 4.1. Rutin Semen Analizi Bulguları..... | 73 |
| 4.2. Semen Viskozite Durumuna Göre Hasta Dağılım Bulguları..... | 76 |
| 4.3. Semende Aglütinasyon Varlığına Göre Hasta Dağılım Bulguları..... | 77 |
| 4.4. Sperm Konsantrasyonlarının Tanısal Gruplara Göre Dağılım Bulguları..... | 77 |
| 4.5. Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi..... | 78 |
| 4.6. Farklı Konsantrasyon Aralıklarında Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi..... | 82 |
| 4.6.1. 0-10 Milyon/ml Referans Aralığındaki Konsantrasyonlara Göre İki Yöntem Arasındaki Uyumun Değerlendirilmesi..... | 82 |
| 4.6.2. 10-20 Milyon/ml Referans Aralığındaki Konsantrasyonlara Göre İki Yöntem Arasındaki Uyumun Değerlendirilmesi..... | 86 |
| 4.6.3. ≥ 20 Milyon/ml Referans Aralığındaki Konsantrasyonlara Göre İki Yöntem Arasındaki Uyumun Değerlendirilmesi..... | 89 |
| 4.7. Semen Viskozitesinin Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyuma Etkisinin Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi..... | 93 |

| | |
|--|------------|
| 4.7.1. Visköz Özellikteki Semen'in Makler Kamara ve Geliştirilmiş | |
| Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyuma Etkisinin | |
| Değerlendirilmesi..... | 93 |
| 4.7.2. Visköz Olmayan Semen'in Makler Kamara ve Geliştirilmiş | |
| Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyuma Etkisinin | |
| Değerlendirilmesi..... | 96 |
| 4.8. Semende Aglutinasyon Varlığının Makler Kamara ve Geliştirilmiş | |
| Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyuma Etkisinin | |
| Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi..... | 100 |
| 4.8.1. Aglutinasyon (+) Olan Semen'in Makler Kamara ve Geliştirilmiş | |
| Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyuma Etkisinin | |
| Değerlendirilmesi..... | 100 |
| 4.8.2. Aglutinasyon (-) Olan Semen'in Makler Kamara ve Geliştirilmiş | |
| Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyuma Etkisinin | |
| Değerlendirilmesi..... | 104 |
| 5. TARTIşMA..... | 108 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 112 |
| KAYNAKLAR..... | 116 |
| EK-1. ÖZGEÇMİş..... | 132 |
| EK-2. ETİK KURUL ONAYI..... | 133 |
| EK-3. ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİş GÖNÜLLÜ OLUR FORMU..... | 134 |

ÖZET

Sperm Konsantrasyonunun Belirlenmesinde Makler Kamarası ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometresi ile Yapılan Sayımların Tutarlılık Düzeyleri

Üreme çağındaki çiftler incelendiğinde, infertilite probleminin yaklaşık yarısını erkek faktörünün oluşturduğu gösterilmiştir. Erkek fertilité potansiyelinin değerlendirilmesi ağırlıklı olarak semen analizinin sonuçlarına dayanır ve analizin ana parametrelerinden biri sperm konsantrasyonunun belirlenmesidir. Sperm sayımında çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri olan Geliştirilmiş Neubauer hemositometre, DSÖ tarafından altın standart olarak kabul edilmiştir. Teknoloji geliştikçe, üreticiler sperm konsantrasyonunu belirlemek için daha hızlı, yeni ve doğru yöntemler geliştirmeye çalışmışlar ve rutinde en sık kullanılan sayım odalarından biri olan Makler kamarayı geliştirmişlerdir. Ancak pek çok araştırmacı iki yönteme ait ölçüm sonuçları arasında uyum eksikliği bulmuştur. Bizde bu tez çalışmasında; iki yöntemi Bland-Altman analizi ile karşılaştırarak, yöntemlerin birbirleri yerine kullanılabilmesi için iki yöntem arasındaki farkların yeterince küçük olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Bu amaçla Balıkesir Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Androloji Laboratuvarına rutin semen analizi için başvuran 100 gönüllü hasta çalışmaya katıldı. Makler kamara ölçümlerinin doğruluğunu değerlendirmek için ESHRE'nin belirlemiş olduğu standart prosedüre göre Geliştirilmiş Neubauer hemositometre kullanılarak sonuçlar karşılaştırıldı. Metotlar yüksek korelasyon gösterdi (0,97). Bland-Altman analizine göre, Makler kamara, hemositometreye göre 22,03 birim yüksek okuduğu sonucuna varıldı. Ayrıca hastalar; 0-10, 10-20, ≥ 20 milyon/ml referans aralıklarına, semende viskozite, aglütinasyon varlığına göre gruplara ayrıldı. İki metot uyumu bu gruplara göre ayrı ayrı değerlendirildi. Makler kamara her birinde fazla okuma eğilimi gösterdi.

Sonuç olarak, iki yöntemin bilinen gerçek bir değeri yoktu. Bizde Bland-Altman analizi ile gerçek değere en yakın olduğu düşünülen iki ölçümün ortalamasını kullanarak, metot uyumunu ölçmeye çalıştık. Daha güvenilir sonuçlar elde etmek için örnek sayısının artırılması ve her metotun kendi içinde tekrarlanması yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Geliştirilmiş neubauer hemositometre, infertilite, makler kamara, semen analizi, sperm konsantrasyonu.

ABSTRACT

Consistency Levels of Counts Made with Makler Camera and Improved Neubauer Hemocytometer at Sperm Concentration Determination

When the reproductive age pairs were examined, it was shown that about half of the infertility problem was caused by the male factor. The evaluation of male fertility potential is predominantly based on the results of the semen analysis, and one of the main parameters of the analysis is the determination of the sperm concentration. A wide variety of methods are used in sperm counting. One of these methods, the improved Neubauer hemocytometer, has been accepted as the gold standard by WHO. As technology developed, manufacturers tried to develop faster, newer, and more accurate methods to determine sperm concentration and developed Makler camera, which is one of the most commonly used counting rooms in its routine. However, many investigators found lack of consistency between the two measurement results. In this thesis study; By comparing the two methods with the Bland-Altman analysis, we aimed to investigate whether the differences between the two methods are sufficiently small so that the methods can be used interchangeably.

For this purpose, 100 patients who applied for routine semen analysis to Balikesir University Health Practice and Research Hospital Andrology Laboratory participated. Results were compared using the improved Neubauer hemocytometer according to the standard procedure that ESHRE determined to assess the accuracy of the makler chamber measurements. The methods showed a high correlation (0.97). According to the Bland-Altman analysis, the Makler camera reached 22.03 units higher than the hemocytometer. In addition, patients; 0-10, 10-20, ≥ 20 million / ml reference intervals, semen viscosity, agglutination status. The compatibility of the two methods was evaluated separately according to these groups. Makler showed a tendency to read more in each case.

As a result, the two methods have no known real value. We used Bland-Altman analysis to measure the methods' accordance by using the average of the two measurements which are considered to be closest to the true value. For more reliable results, it's beneficial to increase the number of samples and repeat each method in.

Key Words: Improved neubauer hemocytometer, infertility, makler camera, semen analysis, sperm concentration.

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|-------|--|
| ABP | : Androjen Bağlayıcı Protein |
| DSÖ | : Dünya Sağlık Örgütü |
| FSH | : Folikül Uyarıcı Hormon |
| GnRH | : Gonadotropin Salgılatıcı Hormon |
| LH | : Luteinleştirici Hormon |
| IUI | : İntrauterin İnseminasyon |
| IVF | : İn Vitro Fertilizasyon |
| ROS | : Reaktif Oksijen Türleri |
| TZI | : Teratozoospermi İndeksi |
| COMET | : Tek Hücre Jel Elektroforezi |
| PSA | : Prostat Spesifik Antijen |
| WHO | : Dünya Sağlık Örgütü |
| CBAVD | : Doğumsal Bilateral Vas Deferens Yokluğu |
| HOS | : Hipoosmotik Şişme Testi |
| ASA | : Anti-Sperm Antikor |
| MAR | : Mikst Antiglobulin Reaksiyon |
| IBT | : İmmunobead Test |
| SPA | : Sperm Penetrasyon Testi |
| TUNEL | : Transferaz-mediated Dntp Nick End-Labeling |
| HZA | : Hemi Zona Assay |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| Şekil 2.1. Erkek üreme sistemini oluşturan organların sagittal kesiti..... | 3 |
| Şekil 2.2. Skrotumun anatomik yapısı..... | 4 |
| Şekil 2.3. Testisin histolojik görüntüsü..... | 8 |
| Şekil 2.4. Seminifer tübülde germinal epitelin kesit alanı..... | 10 |
| Şekil 2.5. Üretra ve penisin anatomik yapısı..... | 21 |
| Şekil 2.6. Testis fonksiyonunun hormonal düzenlenmesi ve androjenlerin etkileri...28 | 28 |
| Şekil 2.7. Farklı sperm aglütinasyon derecelerinin şematik diyagramı..... | 44 |
| Şekil 2.8. Seminal yuvarlak hücre görünümü..... | 46 |
| Şekil 2.9. Sperm sayım odaları..... | 47 |
| Şekil 2.10. Sayım odalarının derinlik karşılaştırılması..... | 48 |
| Şekil 2.11. Sperm ile boyanmış normal morfolojili sperm görüntüsü..... | 54 |
| Şekil 2.12. Sperm kuyruk yapısı..... | 56 |
| Şekil 2.13. Sperm baş defektleri..... | 58 |
| Şekil 2.14. Sperm boyun ve orta parça defektleri..... | 58 |
| Şekil 2.15. Sperm kuyruk defektleri..... | 59 |
| Şekil 3.1. Makler kamara görüntüsü..... | 66 |
| Şekil 3.2. Geliştirilmiş Neubauer hemositometre sayım alanları..... | 67 |
| Şekil 4.1. Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği..... | 79 |
| Şekil 4.2. Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%)..... | 80 |
| Şekil 4.3. Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği..... | 81 |
| Şekil 4.4. Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği..... | 81 |
| Şekil 4.5. 0-10 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği..... | 83 |

| | |
|---|----|
| Şekil 4.6. 0-10 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%)..... | 84 |
| Şekil 4.7. 0-10 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği..... | 85 |
| Şekil 4.8. 0-10 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği..... | 85 |
| Şekil 4.9. 10-20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği..... | 87 |
| Şekil 4.10. 10-20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%)..... | 88 |
| Şekil 4.11. 10-20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği..... | 88 |
| Şekil 4.12. 10-20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği..... | 89 |
| Şekil 4.13. ≥ 20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği..... | 90 |
| Şekil 4.14. ≥ 20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%)..... | 91 |
| Şekil 4.15. ≥ 20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği..... | 92 |

| | |
|--|-----|
| Şekil 4.16. ≥ 20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği..... | 92 |
| Şekil 4.17. Visköz semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği..... | 94 |
| Şekil 4.18. Visköz semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%)..... | 95 |
| Şekil 4.19. Visköz semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği..... | 95 |
| Şekil 4.20. Visköz semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği..... | 96 |
| Şekil 4.21. Visköz olmayan semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği..... | 97 |
| Şekil 4.22. Visköz olmayan semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%)..... | 98 |
| Şekil 4.23. Visköz olmayan semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği..... | 99 |
| Şekil 4.24. Visköz olmayan semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği..... | 99 |
| Şekil 4.25. Aglütinasyon (+) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği..... | 101 |
| Şekil 4.26. Aglütinasyon (+) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%)..... | 102 |

| | |
|---|-----|
| Şekil 4.27. Aglütinasyon (+) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği..... | 103 |
| Şekil 4.28. Aglütinasyon (+) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği..... | 103 |
| Şekil 4.29. Aglütinasyon (-) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği..... | 105 |
| Şekil 4.30. Aglütinasyon (-) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%)...... | 106 |
| Şekil 4.31. Aglütinasyon (-) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği..... | 106 |
| Şekil 4.32. Aglütinasyon (-) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği..... | 107 |

TABLolar DİZİNİ

| | Sayfa No |
|---|-----------------|
| Tablo 2.1. Semen içeriğinin dağılımı..... | 30 |
| Tablo 2.2. DSÖ 1999 ve 2010 kriterlerinde yer alan en düşük referans değerlerin karşılaştırılması..... | 34 |
| Tablo 2.3. Islak preparatın derinlik hesabı..... | 42 |
| Tablo 2.4. Semen analizinde DSÖ 2010 kriterlerine göre terminoloji..... | 63 |
| Tablo 3.1. Islak preparattaki sperm sayısına göre belirlenen dilüsyon oranları..... | 68 |
| Tablo 3.2. 5 numaralı sayım alanına göre sayılacak alanların belirlenmesi..... | 69 |
| Tablo 3.3. Belirli bir toplam için iki sayım arasındaki kabul edilebilir farklar..... | 70 |
| Tablo 3.4. 5 numaralı sayım alanı için dilüsyon faktörleri..... | 71 |
| Tablo 3.5. Birden çok sayılan alan için dilüsyon faktörleri..... | 71 |
| Tablo 4.1. Araştırma popülasyonu için yaş ve semen parametrelerinin dağılımı..... | 74 |
| Tablo 4.2. Semen viskozitesine göre hasta dağılımı (%)..... | 76 |
| Tablo 4.3. Semende aglütinasyon varlığına göre hasta dağılımı (%)..... | 77 |
| Tablo 4.4. Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre ile belirlenen sperm konsantrasyonlarının tanısal gruplara göre dağılımı (%)..... | 78 |
| Tablo 4.5. İki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları..... | 80 |
| Tablo 4.6. 0-10 milyon/ml referans aralığında iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları...84 | 84 |
| Tablo 4.7. 10-20 milyon/ml referans aralığında iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları..87 | 87 |
| Tablo 4.8. ≥ 20 milyon/ml referans aralığında iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları...91 | 91 |
| Tablo 4.9. Visköz semen örneklerinde iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları..... | 94 |
| Tablo 4.10. Visköz olmayan semen örneklerinde iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları..... | 98 |
| Tablo 4.11. Aglütinasyon (+) semen örneklerinde iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları..... | 102 |
| Tablo 4.12. Aglütinasyon (-) semen örneklerinde iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları..... | 105 |

1. GİRİŞ

Seksüel olarak aktif eşlerin, herhangi bir doğum kontrol yöntemi kullanmaksızın, en az bir yıl boyunca düzenli ilişkide olmalarına rağmen gebeliğin oluşmaması *infertilite* olarak tanımlanır. Sağlıklı çiftlerin yaklaşık olarak % 85-90'ında bu süre içerisinde gebeliğin oluşması beklenir (Mosher ve Pratt, 1991). Ancak üreme çağındaki çiftlerde yapılan çalışmalar, bu çiftlerin yaklaşık % 15'inde gebelik oluşmayıp, infertilite sebebi ile tedaviye başvurduklarını göstermektedir. Tedaviye başvuran çiftler incelendiğinde yaklaşık yarısını erkeğe bağlı infertilite oluşturmakta ve erkek faktörünün araştırılmasının tedavinin erken dönemlerinde yapılmasının faydalı olacağını göstermektedir (WHO, 1993).

Erkek fertilizasyon potansiyelinin değerlendirilmesi ağırlıklı olarak semen analizinin sonuçlarına dayanır ve bu analizin ana parametrelerinden biri sperm konsantrasyonunun belirlenmesidir. Sperm sayımı için çeşitli yöntemler mevcuttur. Bu yöntemlerden biri olan Geliştirilmiş Neubauer hemositometre, androloji laboratuvarları ve DSÖ tarafından altın standart olarak kabul edilmiştir (WHO, 1999). Sperm fiksasyonu ve immobilizasyon içeren bu yöntem, yüksek konsantrasyonlu numunelerin seyreltilmesi ve spermin tek bir düzlemde sayılması, bu yöntemin doğruluğuna ve kolay kullanımına katkıda bulunur. Ölçülen sperm konsantrasyonu ile gebelik arasında anlamlı bir ilişki bu yöntem için sürekli olarak gösterilmiştir (Dunphy ve ark., 1989; Tomlinson ve ark., 1996; Guzick ve ark., 2001). Teknoloji geliştikçe, üreticiler sürekli olarak sperm konsantrasyonunu belirlemek için daha yeni, basit, hızlı ve daha doğru yöntemler geliştirmeyi denemiştir. Modern yöntemler daha hızlı olabilmesine rağmen, fikse edilmemiş, dilüe edilmemiş semen kullanıldığında, bazı laboratuvarların bu sayımları daha zor yaptığı ve hareketli sperm sayımının hatalı sonuçlar verebileceği düşünülmektedir. Hareketli spermlerin sayılması ki, bu da tek bir spermin birden fazla sayılması veya hiç sayılmaması anlamına gelebilmektedir. Dahası DSÖ, bu yöntemlerin, numunenin seyreltilmeden kullanılabilmesi açısından uygun olduğunu ancak özellikle yüksek viskoziteli ve

heterojen numuneler için hemositometre tekniklerinin doğruluğundan yoksun olabildiklerini belirtmiştir. Bu tip sayım odaları kullanılacak olursa, yeterli doğruluk ve hassasiyet, hemositometreler ile karşılaştırma yoluyla oluşturulmalıdır. Bununla birlikte bir yöntem olarak geçerliliğine rağmen hemositometrenin kullanımı; hemositometrenin her sayım olayından sonra temizlenmesi, hatalı seyreltme teknikleri kullanımı ve semenin viskozitesine bağlı olarak güvenilir sonuçlar veremeyeceği de düşünülmektedir (WHO, 1999).

DSÖ, sperm konsantrasyonunun belirlenmesi için Makler kamaranın kullanımını da desteklemiştir. Bu sayım odasını kullanmak çok basit ve hızlı olduğu için birçok laboratuvar tarafından rutin olarak kullanılmaktadır. Konsantrasyon, seyreltilmemiş numuneden, ızgaraya sahip kapak camının yerleştirilmesi ile birlikte spermi sayarak hızlı ve doğrudan yapılabilir. Birkaç araştırmacı, Makler kamara yönteminin güvenilir ve doğru sonuçlar verdiğini göstermiştir (Makler, 1978; Tomoyashi ve ark., 1988). Öte yandan birçok rapor, Makler kamarasının yanlış bir yöntem olduğunu belirtmiştir (Mortimer ve ark., 1986; Ginsburg ve Armant, 1990). Makler kamara sonuçları hemositometre ile karşılaştırıldığında genellikle yüksek olduğu gösterilmiştir (Coetzee ve Menkveld, 2001; Sukcharoen ve ark., 1994). Bu yöntemlerin kullanılması sırasında oluşan tutarsızlıkların yukarıda belirtilen hata kaynakları olabildiği gibi yöntem karşılaştırılması sırasında doğru istatistik seçimin yapılamaması da neden olabilir. Ne yazık ki, bu çalışmaların birçoğu sadece sperm sayısındaki farklılıkları analiz etmeye odaklanmışken, doğru ve daha detaylı bir analiz her bir bireyi karşılaştıran ve iki metot arasındaki uyumu ölçen Bland-Altman analizidir. Karşılaştırılmalı verileri analiz etmek için uyum sınırlarının kullanıldığı, grafik tekniklerine ve basit hesaplamalara dayanan bu yaklaşım, iki metot arasındaki karşılaştırmalara olanak tanır. Böylece yöntemlerin birbirinin yerine kullanılabilirliğini için iki yöntem arasındaki farkların yeterince küçük olup olmadığına karar verebiliriz (Bland ve Altman, 1986).

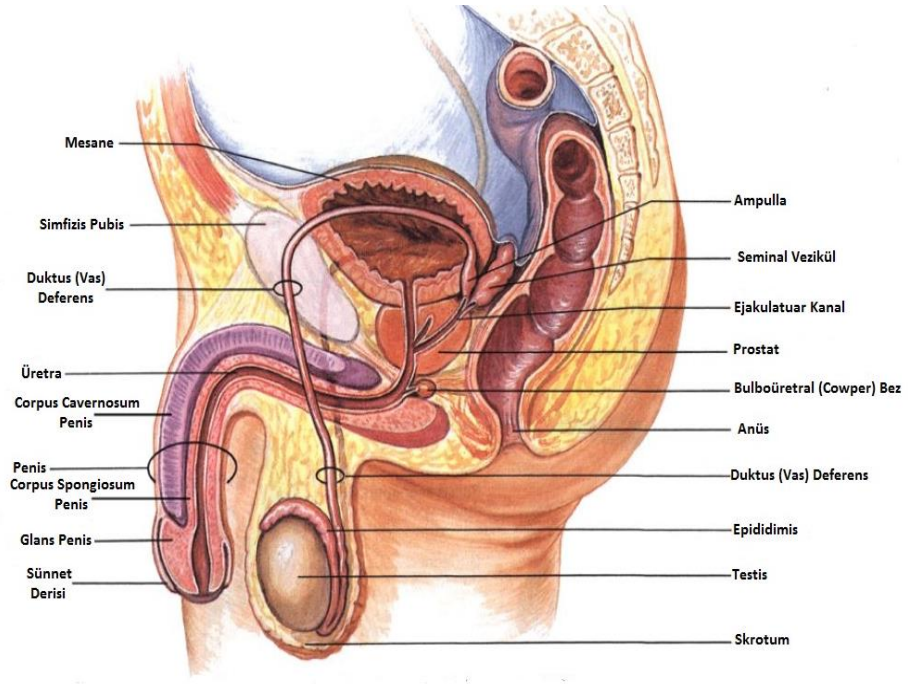
Bu tez çalışmasının amacı; Bland-Altman analizi kullanılarak, sperm konsantrasyonunun belirlenmesinde en sık kullanılan metot olan Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometrenin birbirinin yerine kullanılabilirliğini, ayrıca viskozite, aglütinasyon varlığı ve farklı sperm konsantrasyon düzeylerinin bu ölçümler arasındaki uyuma etkisini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Erkek Üreme Sistemi

Erkek üreme sisteminin üremedeki fonksiyonu; sperm ve seminal plazma üretmek, korumak ve taşımak, bunların kadın genital organlarına bırakılması ve erkek üreme kapasitesini korumak için androjenler üretip, salgılamasıdır (Gadea ve ark., 2013).

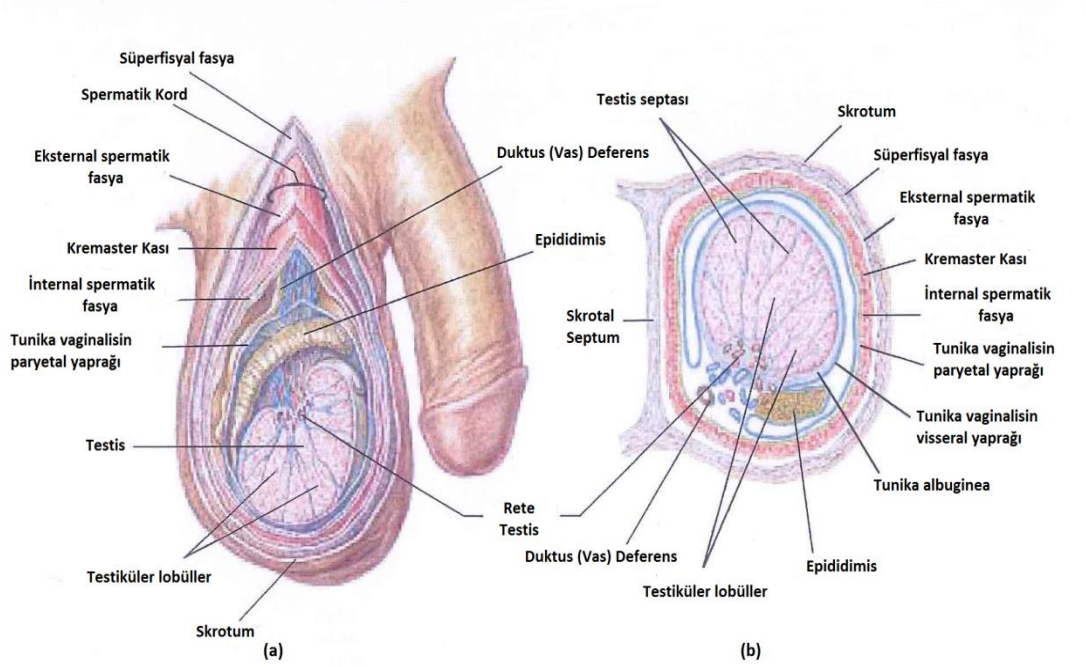
Erkek üreme sistemini oluşturan genital organlar iç ve dış genital organlar olarak ikiye ayrılır. İç genital organlar; testis, epididimis, duktus (vas) deferens ile seminal vezikül, prostat ve bulboüretal (Cowper) bez gibi aksesuar bezlerden oluşur. Dış genital organlar ise; penis, skrotum ve üretradan oluşur (Ekinci, 2011; Gadea ve ark., 2013).



Şekil 2.1. Erkek üreme sistemini oluşturan organların sagittal kesiti (Van De Graaff; İnsan Anatomisi, 2001'den uyarlanmıştır).

2.1.1. Skrotum

Kese şeklinde olan skrotum, penis tabanının hemen arkasına asılıdır. Fonksiyonları; testisleri desteklemek, korumak ve vücudun pelvik bölgesi ile olan konumlarını düzenlemektir. Skrotum, fibröz karakterde skrotal septum ile iki uzunlamasına bölmeye ayrılmıştır. Skrotal septumun amacı, testislerin birbirinden ayrılması ve böylece birinde enfeksiyon olması durumunda diğerinin etkilenmesini önlemektir. Buna ek olarak skrotumu oluşturan sağ kese sol keseye kıyasla biraz daha yukarıda yer alır. Böylece iki testisin kuvvetli bir şekilde sıkıştırılma ihtimali azaltılmıştır(Graaff, 2001).



Şekil 2.2. Skrotumun anatomik yapısı (a) Skrotumun tabakaları, (b) Skrotum içindeki testis yapısı (Van De Graaff; İnsan Anatomisi, 2001'den uyarlanmıştır).

Skrotumu dıştan içe doğru sırasıyla; deri, tunica dartos, fascia spermatica externa, fascia cremasterica, fascia spermatica interna ve lamina parietalis tunica vaginalis testis oluşturur. Skrotumun derisi incedir ve pigmentten zengin olduğu için vücudun diğer deri tabakaları ile kıyaslandığında çoğunlukla koyu renklidir. Yüzeyinde dağınık halde bulunan seyrek kıllar, ter bezleri, sıcaklık değişimleri ve mekanik etkilere karşı duyarlı olan sinir uçları ve karakteristik kokulu salgı yapan

yağ bezleri bulunur. Fakat deri altı yağ dokusu bulunmaz. Derinin altında yer alan tunica dartos tabakasının kasları dış etkenlere göre kasılıp gevşeyerek skrotumun şeklini değiştirebilir. Böylece skrotumun dış görünüşü aynı kişide, farklı zamanlarda değişiklik gösterebilir. Gençlerde ve soğuğa maruz kalma durumunda bu tabakada bulunan kaslar kasılarak skrotumun yüzeyini büzerek küçültür. Yaşlılarda ve sıcağa maruz kalma durumunda ise skrotum gevşer ve uzar. Fascia spermatica externa tabakası, m. obliquus externus abdominis'i saran derin fascia'nın devamıdır. Tunica dartos tabakası ile arasında bir boşluk bulunur. Fascia cremasterica (m. cremaster) tabakası, m. obliquus internus abdominis ve m. transversus abdominis'ten gelen bir kısım kas liflerinden oluşur. Bu kasın kasılması ile birlikte testisler yukarı doğru çekilir ve sıcaklığın korunması sağlanır. Fascia spermatica interna, fascia transversalis'in devam etmesi ile oluşur. Bir üst tabaka olan fascia cremasterica'ya sıkıca, bir alt tabaka olan tunica vaginalis testis'in parietal yaprağına gevşek olarak tutunur. Lamina parietalis tunica vaginalis testis tabakası ise, skrotumun en içte yer alan tabakasıdır. Parietal peritoneum'un devamıdır (Graaff 2001; Ekinci, 2011; Rogers, 2011).

Testislerin ısısı; normal fonksiyon sağlayabilmeleri, sağlıklı bir şekilde sperm üretimi ve depolanması için vücut ısısından yaklaşık olarak 2°-3°C daha düşüktür. Skrotum testis için gerekli olan bu ısıyı, yüzeyinde meydana gelen terleme ve terin buharlaşmasıyla, tunica dartos tabakasında yağ dokusunun bulunmayıp yerine bol miktarda, dış etkenlere bağlı olarak kasılıp gevşeme özelliği gösteren düz kas lifleri bulundurması ile sıcaklığın ayarlanmasına yardımcı olur. Ayrıca testislerin vücut boşluğu dışında yer alması da testislerin vücut ısısından daha serin bir ortamda kalmasını sağlar (Ekinci, 2011; Demir, 2013).

Arterleri; Skrotumu besleyen damarlar a. pudenda interna'nın dalı olan rami scrotales posteriores, a. pudenda externa'nın dalı olan rami scrotales anteriores, a. epigastrica inferior'un dalı olan a. cremasterica, a. abdominalis'in dalı olan a. testicularis'ten oluşur.

Venleri; Skrotumun arterlerine benzer. Skrotumdan aşağıya doğru uzanan testikular arterler, zıt yönde uzanan ve pampiniform pleksusu oluşturan bir ven ağı ile kuşatılmıştır. Testiküler arter ile testise doğru gelen kan, pampiniform pleksustan

testise geri dönen kandan daha sıcaktır. Bu mekanizmaya karşı akım ısı-değişim mekanizması adı verilir ve bu mekanizma sayesinde arteriyel kan testise girmeden önce venöz kan ile soğutularak, testisin düşük sıcaklıkta kalmasına yardımcı olur.

Lenfatikleri; Lenfatik drenaj nodi lymphatici inguinalis superficiales'e olur.

Sinirleri; Skrotal sinirler öncelikli olarak duysaldır. Pudental sinirleri, ilioinguinal sinirleri ve kalçanın posterior kutanöz sinirlerini içerir (Graaff 2001; Ekinci, 2011; Demir 2013).

2.1.2. Testis

Testisler, en önemli erkek cinsiyet hormonu olan testosteron ve erkek üreme hücresi olan sperm üretiminden sorumlu, sağlı sollu bir çift olarak bulunan primer erkek üreme organlarıdır. Gebelikten sonraki yedinci ayda genellikle karın boşluğunun arka duvarında yer alan bu iki testis, fetusun gelişmesi sırasında inguinal kanal boyunca ilerleyerek skrotum içine yerleşir. Skrotum içerisinde spermatik kord ile asılı halde bulunur (Rogers, 2011; Gadea ve ark., 2013). Testisler ortalama 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm genişliğinde ve 3 cm kalınlığındadır. Ortalama ağırlığı 10-14 gr'dır. Sol spermatik kord sağ ile karşılaştırıldığında biraz daha uzundur. Bu nedenle genelde sol testis sağ testise göre daha aşağıda yer alır (Taşar ve Ekici, 2008; Ekinci, 2011). Skrotum içerisinde yer alan testisler oblik pozisyonundadır. *Extremitas superior* (üst uç) ve *extremitas inferior* (alt uç) olmak üzere iki ucu bulunur. Üst ucu biraz ön ve dışta, alt ucu ise hafif arkada ve içte yer alır. Ayrıca *margo anterior* (ön kenar) ve *margo posterior* (arka kenar) adı verilen iki kenara sahiptir. Ön kenarı konveks yapıda, arka kenarı ise hemen hemen düz olup epididimis ile komşudur. Testisler yanlardan basık, oval şekilli olup *facies medialis* (iç yüz) ve *facies lateralis* (dış yüz) adı verilen iki yüze sahiptir. Testisin ön kenarı, bütün yüz ve uçları periton kaynaklı olan tunica vaginalis'in visseral yaprağı ile kuşatılmıştır. Bu periton kaynaklı zar yapısı arka kenarın sadece yan kısmını örtmektedir. Peritonsuz olan düz kısma ise epididimis tutunur (Arıncı ve Elhan, 2001; Sancak ve Cumhuriyet, 2008; Ekinci, 2011).

Testis dıştan içe doğru tunica vaginalis, tunica albuginea ve tunica vasküloza olmak üzere üç tabaka ile kuşatılmıştır. Bu tabakaların hepsi testis kapsülünü oluşturur (Taşar ve Ekici, 2008).

Tunica vaginalis

Fötal yaşamda karın boşluğu içinde yer alan testisler, doğumdan önce inguinal kanalı kullanarak skrotuma iner. Bu geçiş testisten skrotumun iç yüzeyine uzanan *gubernaculum testis* denilen fibröz bir yapı ile belirlenir. Bu yapı fötal yaşamın sonraki dönemlerinde peritonun parmaksı çıkıntısı olan *processus vaginalis* (*saccus vaginalis*) tarafından takip edilerek skrotuma geçiş sağlanır. *Processus vaginalis*, testisin karın boşluğundan skrotuma inmesi sırasında karın ön duvar tabakalarını da sürükler. Bu tabakalar; deri, tunica dartos, fascia spermatica externa, fascia cremasterica, fascia spermatica interna, tunica vaginalis'tir. Doğumdan kısa bir süre sonra *processus vaginalis* kapanır ve geriye kalıntısı olan tunica vaginalis adında bir tabaka bırakır (Atal, 2014).

Testisin en dış yüzeyini örten bu tabaka aynı zamanda skrotumun iç yüzeyini de kaplayan iki tabakalı seröz bir zar özelliğindedir. Testisi kuşatan tabakaya *tunica vaginalis'in visseral yaprağı*, skrotumun iç yüzeyini örten tabakaya ise *tunica vaginalis'in parietal yaprağı* adı verilir. *Tunica vaginalis'in* bu iki tabakası arasında *cavitas serosum scroti* adı verilen bir boşluk yer alır. Bu boşluk içinde bir miktarda seröz bir sıvı vardır ki; bu sıvı skrotum içinde yer alan testisin serbestçe hareket etmesini sağlamak için tunica vaginalis'in tabakalarını birbirinden uzak tutar (Ekinci, 2011; Atal 2014).

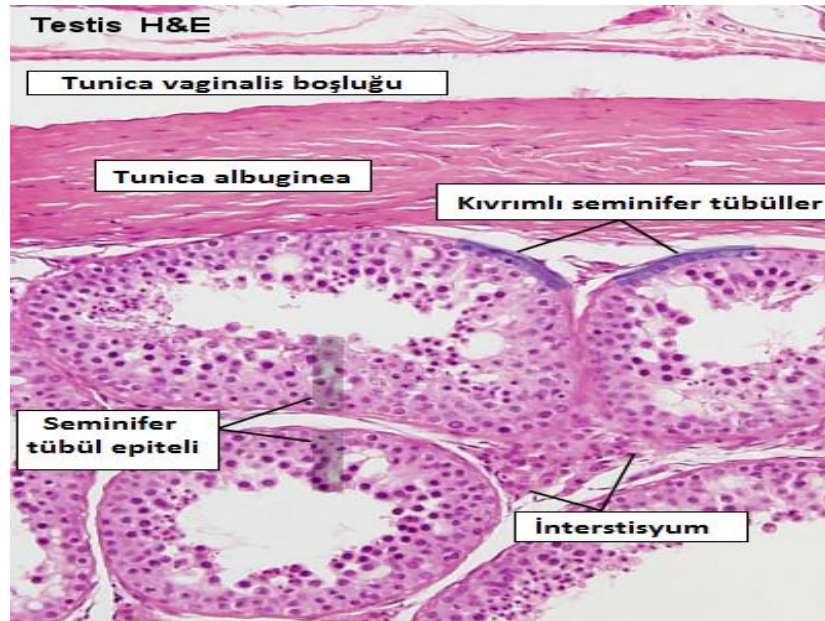
Tunica albuginea

Tunika vaskülozayı kuşatan bu tabaka sert, mavimsi beyaz renkte ve fibröz özellikte bir kılıftır. Kollajen liflerden zengin olan bu tabaka da elastik lif olmadığı için genişleme yeteneği yoktur. Bu tabakanın arka kenarı dışında her tarafı periton tunica vaginalis'in visseral yaprağı ile kuşatılmıştır. Peritonsuz olan arka kenara ise

epididimis tutunur. Ayrıca testis içine girip çıkan sinirler ve damar yapıları da burada yer alır. Tunica albuginea tabakası testisin arka kenarından testis içerisine sokularak *mediastinum testis* (Corpus Higmori) adı verilen tam olmayan bir bölme yapar. Bu bölme testisin üst ucundan alt ucuna kadar uzanır. Mediastinum testisten çıkarak testis parankiminden geçip tunica albuginea'nın iç yüzeyine kadar uzanan uzantılara *septula testis* adı verilir. Bu şekilde uzanan uzantılar testisi *lobuli testis* adı verilen yaklaşık olarak 200-300 adet koni şeklinde lobüllere böler. Lobüllerin tepeleri mediastinum testise, tabanları ise tunica albuginea'nın iç yüzeyine doğru bakar. Her bir lobül yapısında 1-3 seminifer tübül bulundurur (Taşar ve Ekici, 2008; Ekinci, 2011).

Tunica vasculosa

Tunica albuginea'nın iç yüzeyinde yer alan bu tabaka, kan damarlarından zengin olup, bütün lobülleri saran gevşek bağ dokusu özelliğindedir (Taşar ve Ekici, 2008).



Şekil 2.3. Testisin histolojik görüntüsü (The University of Western Australia, <http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/corepages/malerepro/malerepro.htm> 09.09.2017).

Testisler fonksiyonel olarak seminifer tübüller ve interstisyum oluşturan intertübüler doku olmak üzere iki bölmeden oluşur (Gadea ve ark., 2013).

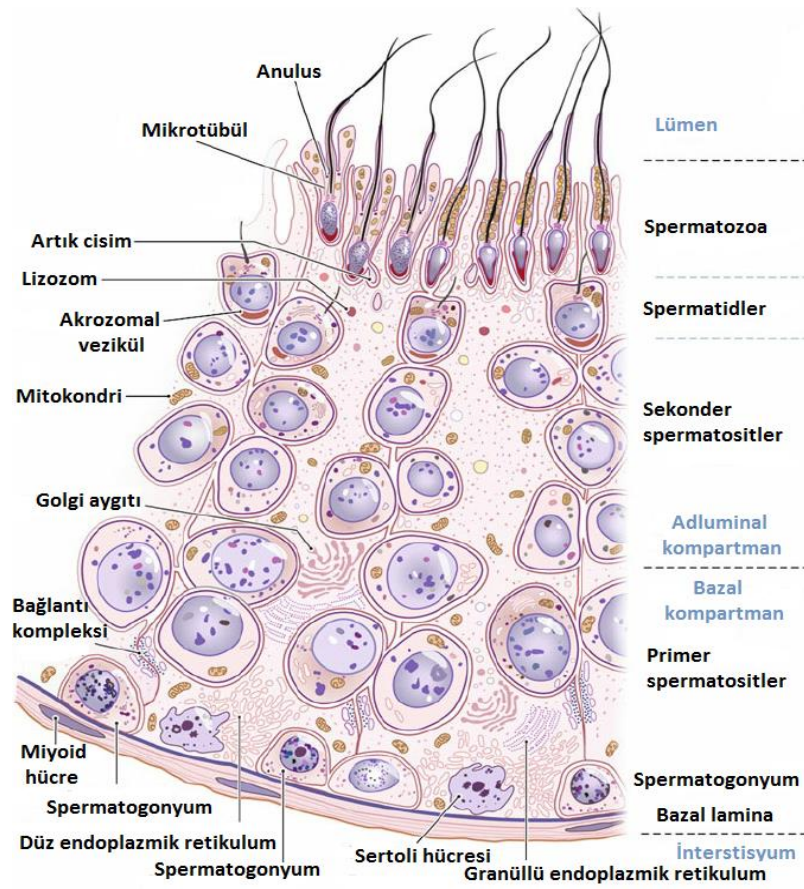
Seminifer tübüller

Septula testis'lerin mediastinum testisten tunica albuginea'ya kadar uzanmaları ile testislerde lobüller oluşur. Her bir lobül içerisinde sayıları 1-3 arasında deĐiŐebilen ve ortalama 400-600 adet *seminifer tübüller* olarak bilenen kanalcık yapıları vardır. Kıvrımlı yapıya sahip olan bu kanalcıkların uzunluğu 70-80 cm ve çapı ise 0,12-0,3 mm'dir. Periferde k r bir uçla başlayarak, kıvrımlı devam eden bu kanalcık yapıları mediastinum testise doğru uzandık a düzleşir ve birleşerek sayıları yaklaşık 20-30 olan *tubuli recti* adı verilen düz kanalları oluşturur. Bu kanal yapıları yaklaşık 0,5 mm çapında olup, mediastinum testiste birleşerek *rete testis* (Haller ağı) adı verilen bir ağ yapısı meydana getirirler. Bu ağ yapısında sayıları yaklaşık 12-15 olan ve tunica albuginea'yı geçerek epididimis başına giren *ductuli efferentes* adı verilen kanallar yer alır. Bu kanallar epididimise doğru uzanırken baŐlangıçta düzdür. Epididimise yaklaŐıkça kıvrımlaŐıp, kalınlaŐarak uzunluğu ortalama 1 cm olan *lobuli coni epididimis* yapılarını oluştururlar. Bu yapılar da epididimisin kaput bölgesinde yer alan *ductus epididimis* adı verilen kanallara açılır (Taşar ve Ekici, 2008; Ekinci, 2011).

Seminifer tübüller testis hacminin yaklaşık % 90'ını oluştururlar (Rogers, 2011). Septula testis'lerin oluşturduğu lobüller içerisinde yer alan bu kanalcıklar interstisyum ile çevrilidir. Kanalcıklar ve interstisyum birbirinden fibrositlerin meydana getirdiği adventisyal bir tabaka ile ayrılır. Bu tabakanın hemen altında kontraktil özelliği olan miyoid hücrelerin oluşturduğu bir tabaka yer alır (Schlegel ve ark., 2007). En iç tabakayı elastin içerikli bazal membran oluşturur. Bazal membrandan seminifer tübül lümenine doğru uzanan çok katlı hücre tabakası vardır. Bu tabakayı destekleyici olan *sertoli hücreleri* ve *spermatojenik hücreler* oluşturur.

Bazal membran üzerine oturan sertoli hücreleri düzensiz bir Şekle sahip olup uç kısmında girinti ve çıkıntılar vardır. Bu hücreler farklı aşamalarda olan spermatojenik hücrelerin (spermatogonia, spermatoosit, spermatid, sperm) beslenme,

korunma ve taşınmasına destek verir. Spermatojenik hücreler seminifer tübül lümenine ulaşır, lümen içine bırakılacak olgunluğa erişene kadar bu hücrelere tutunurlar. Sertoli hücreleri lateral yüzeylerinde de uzantılara sahip olup bu uzantılar sayesinde birbirlerine sıkı hücresel bağlantılarla bağlanırlar. Bu şekilde kan testis bariyerinin oluşumunu sağlarlar. Bu bariyer seminifer tübülü bazal ve adluminal kompartman şeklinde ikiye böler. Bazal alanda spermatogonyumlar ve erken dönem primer spermatisitler bulunurken, adluminal alanda ise daha ileri aşamadaki hücreler yer alır (Gartner ve Hiatt, 2006; Schlegel ve ark., 2007; Taşar ve Ekici, 2008).



Şekil 2.4. Seminifer tübülde germinal epitelin kesit alanı (Durairojanayogram ve ark., 2015'ten uyarlanmıştır).

Sertoli hücrelerinin bölünmesi yavaş olup, adolesan çağdan sonra bölünme görülmez. Ancak fonksiyonu hayat boyu devam eder. Spermatojenik hücreleri besledikleri gibi aynı zamanda hücre gelişimi bozulmuş hücreleri ve yabancı maddeleri de fagosite etme özelliğine de sahiptirler. Bir diğer fonksiyonuda androjen

bağlayıcı protein (ABP), tip 1 ve 5 kollajen, transferin, seruloplazmin, inhibin ve antimüllerian hormon gibi birçok madde sentezlemesidir (Brehm ve Steger, 2005; Gartner ve Hiatt, 2006). FSH reseptörü taşır. Fonksiyonu genelde FSH ve testosteron hormonu seviyelerine göre ayarlanır (Sargın ve Arpalı, 2011; Taşar ve Ekici, 2008).

İnterstisyum

Lobülleri oluşturmak için testis parankiminden geçen septula testis uzantıları lobüller içerisine girerek ince bir bağ dokusu halinde seminifer tübülleri sarar. İnterstisyum adı verilen bu bölme gevşek bağ dokusu özelliğinde olup içinde kan ve lenfatik damarlar, fibroblastlar, makrofajlar, lökositler ve interstisyel hücre olarak bilinen leydig hücreleri bulunur. Leydig hücreleri çoğunlukla kan damarlarına ve seminifer tübüllere bitişik halde bulunan ana hücre türüdür. Erkek seks steroid hormonu olan testosteronun baskın kaynağıdır (Gadea ve ark., 2013).

Arterleri; Testisi besleyen ana damar a. testicularis'tir. Testis içinde kıvrımlı bir şekilde kan testis bariyerine gelirler.

Venleri; Arterler gibi seyir gösteren ven yapıları testis etrafında pampiniform pleksusu oluştururlar. Daha sonra burada birleşip v. testicularis'i meydana getirirler. Testiküler ven sağda v. cava inferior'a, solda ise v. renalis sinistra'ya dökülür.

Lenfatikleri; Lenfatik drenajı nodi lymphatici aortici laterales ve nodi lymphatici preaortici'ye olur.

Sinirleri; T10-11 medulla spinalis segmentlerinden gelen sinirler renal ve aortik otonomik pleksuslardan geçerek testislere ulaşır. İnervasyon bu şekilde sağlanır (Taşar ve Ekici, 2008; Ekinici, 2011).

2.1.3. Epididimis

Spermleri depolama, olgunlaştırma ve taşıma işlevini yerine getiren, testis ile duktus deferens arasında yer alan spermatik kanalın bir bölümüdür (Gadea ve ark., 2013). Epididimis; *caput epididimis* (baş), *corpus epididimis* (gövde) ve *cauda epididimis* (kuyruk) olmak üzere üç bölüme ayrılır. Testisten gelen ductuli efferentes adı verilen kanallar doğrudan *caput epididimis*'e gelir ve burada yer alan ductus epididimis'e açılır. Bu şekilde testis epididimise bağlanmış olur. Ductus epididimis yaklaşık 6 m uzunluğunda olup kıvrımlı bir yapıya sahiptir. *Cauda epididimis*'e doğru gelindikçe çapı artar ve kıvrımlı yapısı düzleşmeye başlayarak duktus deferens'i meydana getirir (Taşar ve Ekici, 2008; Ekinci, 2011). Ductuli efferentes kanal yapıları uzun silyalı ve kısa silyasız hücrelerden oluşan epitel ile çevrili olduğu için düzensiz bir lümenine sahiptir. Ductus epididimisin lümenine gelindiğinde ise yerini yalancı çok katlı silindirik epitel alır. Bu epitelin yapısında stereosilyalar bulunduran uzun silindirik esas hücreler ve küçük bazal hücreler yer almaktadır (Demir, 2013).

Testiste üretilen sperm hücrelerinin epididimisten geçmesi yaklaşık iki hafta alır. Sperm bu taşınma sırasında önemli morfo-fonksiyonel değişikliklere uğrar. Sperm hücreleri testisten ayrıldıkları sırada tam olarak oluşmuş olsalar bile hareketsiz ve olgunlaşmamıştır. Testisten gelen sıvılar *caput epididimis* bölgesinde absorbe edilerek, epididimal epitelden salgılanan sekresyonlarla yer değiştirir. *Caput epididimis*'ten *cauda epididimis*'e doğru taşınma sırasında epididimal sıvıdaki farklı protein, şeker ve lipidlerin miktarlarında değişiklikler meydana gelir. Bu değişiklikler *cauda epididimise* varan sperm hücrelerinin plazma zarının üzerinde değişiklikler meydana getirerek hücrenin tam olarak olgunlaşmasını sağlar. Ejakülasyon oluncaya kadar depolanan sperm hücreleri bu taşınma sırasında ayrıca yumurta hücrelerini tanıma, bağlanma ve eritme özelliklerini de kazanır (Moore, 1998; Gadea ve ark., 2013).

Epididimisin arter, ven, lenf ve sinir invazyonu testiste olduğu gibidir (Ekinci, 2011).

2.1.4. Duktus (Vas) Deferens

Deferens kanal veya vas deferens olarak bilinen bu boru şeklindeki organ, 45 cm uzunluğunda ve kassal yapıda olup, epididimis ile üretrayı birleştirir. Mukozası, yalancı çok katlı stereosilyalı prizmatik epitel ile döşelidir. Stereosilyaları uzundur. Kas tabakası ise çok gelişmiş olup, iki tane ince uzunlamasına düz kas tabakası arasında kalın bir dairesel kas tabakasından oluşmuştur. Ejakülasyon sırasında deferens kanalın düz kasları refleks olarak kasılarak daralır. Böylece sperm ve sıvıları ileriye doğru itilerek üretraya aktarılır (Ekinci, 2011; Gadea ve ark., 2013).

Ductus epididimis, epididimisin kuyruk ucundan itibaren deferens kanal olarak adlandırılır ve geçtiği yere göre pars epididymica, pars funicularis, pars inguinalis ve pars pelvina olmak üzere dört bölüm oluşturur. Deferens kanal, başlangıç noktasında çok kıvrımlı olup üretraya doğru uzandıkça düzleşir. Pars epididymica adı verilen parçası ile epididimis boyunca yükselir. Testisin üst ucuna kadar gelerek spermatik kord yapısına katılır. Bu parçaya pars funicularis adı verilir. Yukarıya doğru ilerlemeye devam ederek pars inguinalis adı verilen parçası ile inguinal kanaldan geçerek karın boşluğuna gelir. Spermatik kord'tan ayrılarak aşağıya doğru iner. Bu parçası pars pelvina'dır. Aşağı doğru inmeye devam ederek, küçük pelvise girer. A. umbilicalis'i çaprazlayarak üreterin ön yüzüne gelir. Üreteride çaprazlayarak orta hatta doğru ilerler. Mesanenin arka yüzü ile seminal vezikülün üst ucu arasında ortaya ve hafif öne doğru ilerlemeye devam eder. Her iki taraftan gelen deferens kanalları aynı şekilde ilerleyerek birbirlerine yaklaşır. Deferens kanalın son bölümünde organ lümeni genişleyerek *ampulla ductus deferentis* meydana gelir. Bu bölüm mesanenin fundus parçası ile rektum arasında bulunur ve spermlerin depolanma yeridir. Organ lümeni, deferens kanalın ampulla bölümünün altından tekrar daralmaya başlar ve prostat tabanının yakınında seminal vezikül kanalı ile birleşerek yaklaşık 2 cm uzunluğunda olan *ductus ejaculatorius'u* meydana getirirler (Taşar ve Ekici, 2008; Ekinci, 2011).

Arterleri; A. vesicalis superior'un bir dalı olan a. ductus deferentis ile beslenir. A. testicularis ile anastomoz yaparak testis ve epididimisin beslenmesinde yardımcı olur. Deferens kanalın ampulla bölümünün beslenmesi ise a. vesicalis superior, a. vesicalis inferior ve a. rectalis media'dan sağlanır.

Venleri; Arterler ile aynı adı alır ve onları takip ederler.

Lenfatikleri; Nodi lymphatici iliaci externi'ye drene olurlar.

Sinirler; İnervasyon plexus hypogastricus inferior ile sağlanır (Ekinci, 2011).

2.1.5. Üretra

Başlangıç noktası mesanenin alt ucunda yer alan ostium üretra internum olup, penisin ucunda yer alan ostium üretra externum'a kadar uzanan ve ejakulat ile idrar için ortak bir yol olan yaklaşık 18-20 cm uzunluğunda bir organdır. Pars prostatica üretra, pars membranacea üretra ve pars spongiosa üretra olmak üzere üç kısma ayrılır. Normalde kapalı halde bulunan organ lümeni, idrar ya da ejakulat geçerken açılır (Ekinci, 2011; Gadea ve ark, 2013).

Pars prostatica üretra

Üretranın en geniş bölümü olup, yaklaşık 3-4 cm uzunluğundadır. Prostat bezi içerisinde yer alır. Üretranın arka duvarında uzunlamasına seyreden mukozal bir katlantı yer alır. Bu katlantıya *crista üretralis* adı verilir. Crista üretralis'in yanında *sinus prostaticus* denilen çukurcuklar ve bu yapılar içerisinde yaklaşık 15-20 tane olan, prostat bezi salgısını getiren *ductuli prostatici* denilen kanallar bulunur.

Pars membranacea üretra

Üretra'nın ostium üretra externum'dan sonra gelen en dar kısmıdır. Uzunluğu yaklaşık 1,25-2 cm olup üretranın en kısa bölümüdür. M. sphincter üretra externa ile kuşatılmış olup yanında bulboüretral bez yer alır.

Pars spongiosa uretra

Corpus spongiosum penis içerisinde yer alan, ön uretra olarak da bilinen ve yaklaşık 15 cm uzunluğunda olan uretra bölümüdür. Pars spongiosa uretra, uretranın darlıklarından olan membranöz kısım ve ostium uretra externa arasında yer alır. Başlangıç bölümünde görülen genişlemeye *fossa bulbaris* adı verilirken, son bölümünde görülen genişlemeye ise *fossa navicularis uretra* denilir (Ekinci, 2011).

2.1.6. Seminal Vezikül

Seminal vezikül, mesanenin arka tarafı ve rektum arasında yer alan, uzunluğu 5 cm, genişliği 2,5 cm olan, sağda ve solda birer tane bulunan ve piramite benzeyen glandüler yapıdaki bir organdır. Her vezikül yaklaşık 10-15 cm uzunluğunda, 3-4 mm çapında tübüler bir yapıya sahip olup, bu tüpten uzanan çok sayıda divertikül yapıları vardır. Bunların hepsi bağ dokusu ile bir arada tutulur. Bu bezin alt ucu deferens kanal ile birleşerek ductus ejaculatorius'u oluşturur. Üst ucu ise ureterin mesaneye girdiği bölüme yakındır ve bağ dokusu ile mesaneye bitişik olarak bulunduğundan dolayı, yeri mesanenin doluluk oranına göre değişir. Seminal vezikül duvarı eksternal bir bağ dokusu, bağ dokusu altında dışta uzunlamasına içte dairesel düz kas tabakası, en içte ise yalancı çok katlı silindirik epitel özelliğindeki mukozal tabakadan oluşur. Ejakülasyon sırasında organ kontraksiyona uğrayarak salgısını ductus ejaculatorius'a bırakır (Ekinci, 2011; Rogers, 2011).

Seminal vezikül salgısı semenin yaklaşık % 50-70'ini oluşturur. Bu salgı içerisinde spermlerin beslenmesi ve yaşaması için gerekli olan proteinler, enzimler, fruktoz, mukus, C vitamini, flavinler, fosforilkolin ve prostaglandinler bulunur (Gonzales, 2001). Hafif alkali özellikte olan bu sıvıdaki yüksek fruktoz düzeyleri sperm için besleyici enerji sağlar. Seminal vezikül salgıları, kontraksiyon ile ejakülasyonun gerçekleşmesi sonucunda açığa çıkan semenin pıhtılaşmasını sağlar. Bu pıhtılaşmadan sorumlu ana bileşen seminal vezikül içerisinde yer alan 52-kDa protein özelliğindeki semenogelin I'dir. Veziküllerin aktivitesi testislerin androjen üretimine bağlıdır (Rogers, 2011; Gadea ve ark., 2013).

Arterleri; A. vesicalis inferior ve a. rectalis media ile beslenir.

Venleri; Arterlere eşlik eder.

Lenfatikleri; Nodi lymphatici iliaci interni ve externi' ye drene olur.

Sinirleri; İnervasyonu medulla spinalis L1-2 segmentlerinden gelen sempatik lifler ve S2-4 segmentlerinden gelen parasempatik liflerle sağlanır (Ekinci, 2011).

2.1.7. Prostat

Prostat, erkeklerde en büyük aksesuar seks bezidir ve hem semen hem de idrarın taşınmasında görev alan üretrayı mesaneden çıkarken çevreleyen kaslı bir tek bezdir (Kumar ve Majumder, 1995; Rogers, 2011). Bezin en geniş alandaki çapı yaklaşık 4 cm, yüksekliği 3 cm, kalınlığı 2 cm ve ağırlığı 20 gr'dır (Ekinci, 2011; Rogers, 2011). Kestaneye benzeyen bir şekle sahip olan prostatın basis prostata adı verilen bir tabanı, apex prostata adı verilen bir tepesi ile facies anterior, facies posterior ve facies inferolateralis adı verilen üç tane yüzü bulunur (Ekinci, 2011).

Basis prostata

Mesanenin boyun bölümüne oturup, büyük kısmı mesaneye bitişik olarak bulunur. Üretra bu bölümün ön yüzeyinden prostat içine girer ve prostat içinde yer alan bu segmente *prostatik üretra* denir. Bu bölüm apekse göre daha yuvarlaktır.

Apex prostata

Üst kısmı yuvarlak olan prostat, apekse doğru gittikçe daralır. Diaphragma ürogenitale'nin üst yüzeyine yerleşen bölümdür.

Facies posterior

Prostatatın arka yüzü olarak bilenen bu kısım anüs'ten yaklaşık 4 cm yukarıda yer alır. Arka yüzün üstünde bulunan bir çukurluktan ejakülatuar kanallar prostata doğru girer. Bu çukurluk arka yüzü iki bölüme ayırır. Çukurluğun yukarısında kalan küçük bölüme lobus medius denir. Bu bölme üretra ile ejakülatuar kanal arasında yer alır. Çukurluğun aşağısında kalan büyük bölme ise orta hatta uzanan bir oluk ile lobus dexter ve lobus sinister olmak üzere iki loba ayrılır. Prostatın esas parçalarıdır. Rektal tuşe ile muayene edilebilir olmasından dolayı bu yüz oldukça önemlidir.

Facies anterior

Symphysis pubica'nın arkasında yer alan bu yüz yapısında, Santorini ven pleksusu ve yağ dokusu içerir.

Facies inferolateralis

M. levator ani'nin ön parçaları prostatı yanlardan sararak organa desteklik sağladığı için bu bölüme m. levator prostatae denilir (Ekinci, 2011).

Prostat dış yüzeyinden *capsula prostatica* denilen fibröz yapıdaki bir kapsül ile sarılıdır. Bu yapı organ içerisine doğru uzantılar göndererek organı yaklaşık 40-50 lobcuğa böler. Prostat dokusu; tubulo alveolar bezlerden meydana gelen bez dokusu ile bez dokusu arasını dolduran ve ejakulasyon sırasında kasılmasıyla prostatta bulunan salgıyı üretraya aktarmayı sağlayan kas dokusundan oluşur (Ekinci, 2011).

Prostat, semen hacminin üçte birini oluşturan, pH'sı 6,6 olan hafif asitli bir sıvı üretir, depolar ve salgılar. Bu salgı kalsiyum, çinko, sitrik asit ve asit fosfataz gibi bileşenler bakımından zengindir. Fosfataz, fosforil-kolini, sperm tarafından besin olarak kullanılan koline hidrolize eder. Bu salgı ek olarak üriner sistem

enfeksiyonlarına karşı savaşan antimikrobiyal bir protein olan seminal plazmin ile seminal koagulumu sağlayan yüksek moleküler ağırlıklı proteini parçalamak ve ejakulasyonu takiben semenin sıvılaşmasına sağlayan bir proteaz olan prostat spesifik antijeni (PSA) içerir (Gadea ve ark., 2013). Semen özelliğini veren spermatozoaların hareketini sağlayan proteinler (Ekinci, 2011).

Prostat fonksiyonu hormonlar tarafından düzenlenir. Testosteronun varlığı, prostat bezinin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün korunması için gereklidir (Gadea ve ark., 2013). Normalde prostat 10-14 yaş arası ergenlik döneminde erişkin boyutuna ulaşır. 50 yaş civarında, prostat boyutu ve salgı miktarı sıklıkla azalır. Orta yaşta sonra, iltihaplanma ve malignite sonucunda büyüyebilir ve bu durum idrar yapmayı zorlaştırabilir (Rogers, 2011).

Arterleri; A. vesicalis inferior ve a. rectalis media ile beslenir.

Venleri; Prostattan çıkan venler prostat kapsülü yakınında plexus prostaticus adı verilen bir ağ meydana getirir. Bu ağ yapısı v. iliaca interna'ya drene olur.

Lenfatikleri; Nodi lymphatici iliaci interni ve nodi lymphatici sacrales'e drene olur. Mesaneden çıkan lenf damarları ile birleşerek nodi lymphatici iliaci externi'ye açılır.

Sinirleri; Parasempatik sinirleri medulla spinalis'in S2-4 segmentinden, sempatik sinirleri ise L1-2 segmentinden gelerek inervasyonu sağlar (Ekinci, 2011).

2.1.8. Bulboüretal (Cowper) Bez

Cowper bezi olarak da bilinen bulboüretal bezler yuvarlak şekle sahip olup, yaklaşık 1 cm çapında, sarı renkte ve prostatın distalinde yer alan bir çift bezdir. M. sphincter uretrae lifleri ile sarılmış olan bu bezler bulbus penis'in üzerinde bulunur. Her bir bezin *ductus glandulae bulboüretalis* adı verilen ortalama 2,5 cm uzunluğunda akıtıcı kanalı bulunur. Bu bezlerin salgı ürünleri, berrak ve yapışkan özellikte muköz bir sıvıdır. Seminal sıvının bir bileşeni olan bu salgı üretrayı korur.

Ejakülasyondan önce üretrayı yıkayan bir yıkama ajanı olarak işlev gördüğü ve semeni daha az sulandırarak sperm için uygun bir yaşam ortamı oluşmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir (Rogers, 2011; Ekinci, 2011; Gadea ve ark, 2013).

2.1.9. Penis

Penis dış genital organ olup, normalde yaklaşık 8-10 cm uzunluğunda, 3 cm çapında iken, ereksiyon durumunda ise 15 cm uzunluğuna ve 4 cm çapına ulaşır. Radix penis ve corpus penis olarak iki bölüme ayrılır. Radix penis, dışarıdan görünmeyen ve perineumda yer alan bölümü iken corpus penis ise dışarıda yer alan ve çiftleşmeyi sağlayan bölümdür. Dinlenme halinde corpus penis'in ön yüzüne *dorsum penis*, arka yüzüne ise *facies üretralis* adı verilir. Ereksiyon halinde dorsum penis arkaya, facies üretralis ise öne doğru bakar. Penis, ikisi *corpus cavernosum penis*, biri *corpus spongiosum penis* denilen üç tane erektil yapı içerir. Bu erektil yapılar hem radix penis'te hem de corpus penis'te yer alır.

Radix Penis

Radix penis'in yapısına katılan kavernöz yapılar *crus penisleri*, spongioz yapılar ise *bulbus penis'i* oluşturur. Crus penis, symphysis pubica'nın arkasında sağ ve sol crus penis şeklinde bir çift olarak bulunur. M. ischiocavernosus ile kuşatılmıştır. Bulbus penis ise, sağ ve sol crus penis arasındaki aralıkta yer alan, corpus spongiosum penis'in geniş olan arka kısmıdır. M. bulbospongiosus ile kuşatılmıştır. Üretra, bulbus penis'in arka ucundan spongioz yapıya giriş yapar.

Corpus penis

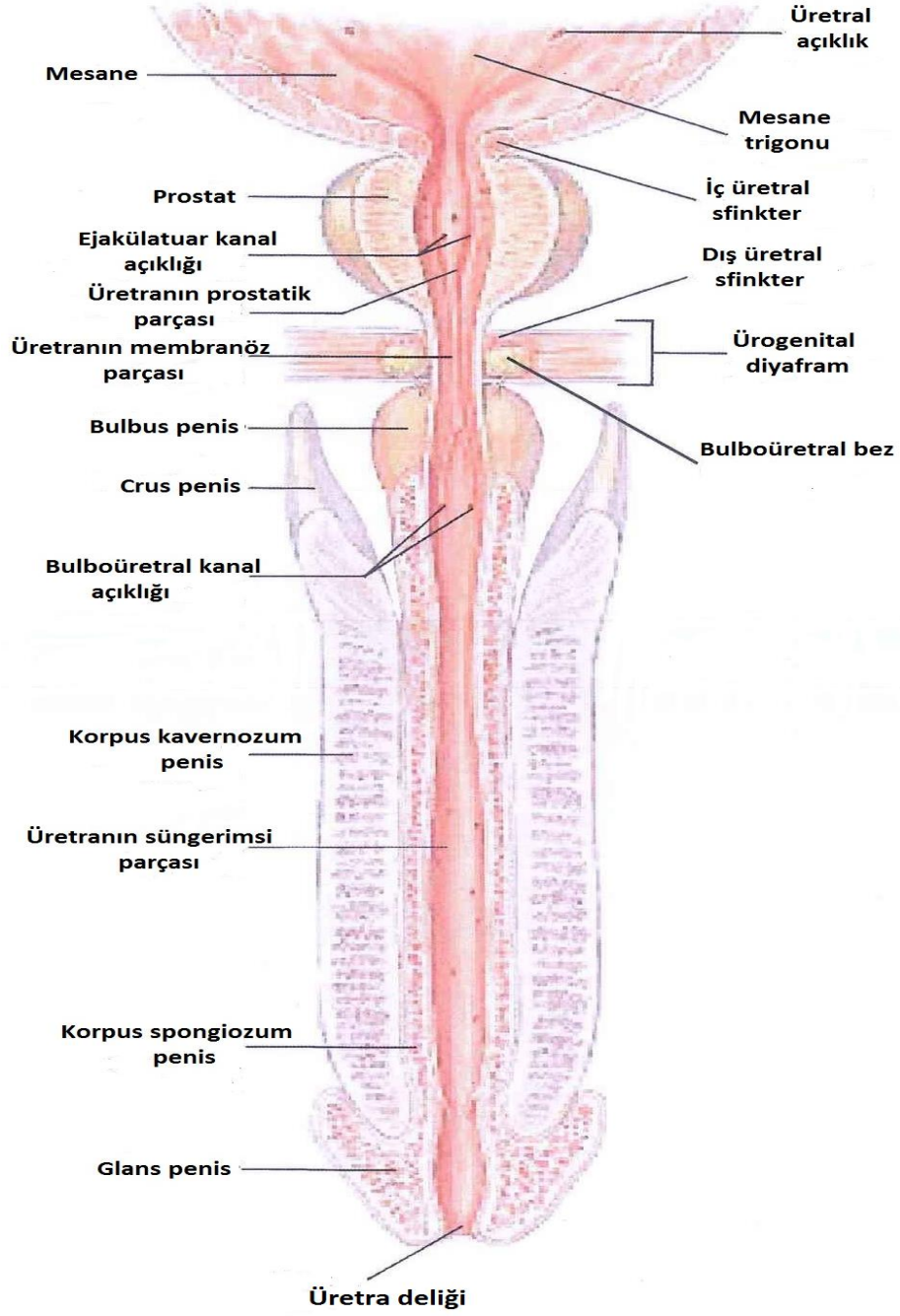
İki tane corpus cavernosum penis ve bir tane corpus spongiosum penis olmak üzere üç erektil yapıdan oluşmuştur.

Corpus cavernosum penis; sağ ve solda bir çift halinde olan bu yapı penisin ön $\frac{3}{4}$ kısmında birbirine bitişik halde bulunurken, arka $\frac{1}{4}$ kısmında ise crus penis'i oluşturmak için birbirlerinden ayrılırlar. Penisin ön ucunun 1 cm gerisinde sonlanan ve glans penis'in içine giren bu kavernöz yapının ön uçları ince yapıdadır. İki tane olan corpus cavernosum penis yapısı *tunica albuginea corpus cavernosum* adı verilen, kollagenden zengin bir kılıf ile kuşatılmıştır. Kollagen liflerin düzenlenme özelliği bu kılıfı yüzeysel ve derin olarak iki tabakaya ayırır. Yüzeysel tabakada bulunan lifler her iki kavernöz yapıyı birlikte ve uzunlamasına sararken, derin tabakada yer alan lifler her iki kavernöz yapıyı tek tek ve dairesel olarak sarar. Tek tek sarılan bu kavernöz yapıların birleştiği orta hatta *septum penis* adı verilir. İki kavernöz yapının yan yana gelmesi ile corpus penis'in arka yüzeyini oluşturan facies üretralis'te oluşan oluğa *sulcus üretralis* adı verilir. Bu bölgeye corpus spongiosum penis yerleşir. Penis sırtında yer alan oluğa ise *sulcus dorsalis* denir ve bu bölgede de v. dorsalis profunda penis yer alır.

Tunica albuginea corpus cavernosum adı verilen kılıftan kavernöz yapıların içine doğru çok sayıda trabekül adı verilen uzantılar çıkar. Elastik ve düz kas lifleri içeren, çok sayıda kan damarının eşlik ettiği bu trabeküller sayesinde kavernöz yapılar içerisinde boşluklar oluşur. Ereksiyon durumunda kan ile dolan bu boşluklar dinlenme durumunda genelde boştur.

Corpus spongiosum penis; içerisinden üretra geçen bu yapı kavernöz yapıların aksine tektir. Corpus penis'in arka yüzeyinde oluşan sulcus üretralis adı verilen oluğun üzerine yerleşmiştir. Silindir şeklinde olan bu yapıyı çevreleyen tunica albuginea kılıfı kavernöz yapıları çevreleyen kılıfa göre biraz daha ince yapıdadır. Ayrıca kılıfın iç yüzeyinden uzanan trabekül adı verilen uzantılar spongioz yapıları daha küçük yapıda boşluklara böler.

Spongioz yapının iki uç bölgesi ortasına göre biraz daha geniş yapıdadır. Bu geniş bölgelerden radix penis içerisinde bulunan kısma *bulbus penis*, corpus penis bölgesinde yer alan genişlemiş bölgeye ise *glans penis* adı verilir. Kavernöz yapıların ön kısmını şapka gibi kaplayan glans penis'in ön ucunda yer alan vertikal konumlu yarığa *ostium üretra externum* adı verilir (Ekinci, 2011).



Şekil 2.5. Üretra ve penisin anatomik yapısı (Van De Graaff; İnsan Anatomisi, 2001'den uyarlanmıştır).

Arterleri; penis a. pudenda interna'dan zengin bir kan kaynağına sahiptir ve penisi besleyen esas damar budur. A. femoralis'in dalı olan a. pudenda externa ise penis derisini besler. A. pudenda interna'nın terminal dalı olan a. penis'ten; bulbus penis'e giden a. bulbi penis dalı, üretraya giden a. üretralis dalı, crus penislerin içinden geçerek tunica albuginea kılıfını delen ve kavernöz cisimlere geçen a.

profunda penis dalı ve penis sırtından glans penis'e kadar uzanan a. dorsalis penis dalları oluşur.

Venleri; üç tane veni vardır. V. dorsalis superficilis penis, penis derisinden gelen kanı toplar. V. dorsalis profunda penis, tek bir ven olup glans penis'i drene eden venler tarafından oluşur. Kavernoöz ve spongioz yapılardan gelen venlerde buraya dökülür. V. profunda penis, bir çift ven olup crus penislerin içerisinden geçerek tunica albuginea kılıfını delerek burada ağ yapısı oluştururlar. Bu ağ yapısından çıkan venlerde v. pudenda interna'yı meydana getirir.

Lenfatikleri; Nodi lymphatici inguinales profundi'ye glans penis'e ait lenfler, nodi lymphatici inguinales superficiales'e ise diğer bütün lenfler drene olur (Ekinci, 2011).

Sinirleri; penis otonom ve duyu sinirlerle desteklenir. Otonom sinir liflerinin sempatik sinirleri kan damarlarının daralmasına, parasempatik sinirleri ise kan damarlarının genişlemesine neden olur (Rogers, 2011). Duyu sinirleri ise öncelikle n. dorsalis penis daha sonra n. pudendus içinde ilerleyerek medulla spinalisin S2-4 segmentine ulaşır. S2-4 segmenti ereksiyon merkezi olup, buradan çıkan parasempatik sinirler plexus pelvicus'a gelerek nn. erigentes adı altında nöron değişikliği yapar ve penis damarlarına girer. Buradaki damarların genişlemesi ile ereksiyon gerçekleşmiş olur. Ereksiyon adı verilen fizyolojik olay, genital bölgedeki dokunma uyarımı ile veya beyinden gelen parasempatik yolları tetikleyen görsel veya duygusal uyaranlardan kaynaklanır. Bu tip uyarılar penis ve venöz sinuslerde bulunan damarların genişlemesine neden olur (Gadea ve ark., 2013). Böylece penis gerilip uzar. Aynı zamanda tunica albuginea'nın kıvrımlı yapısı düzleşir ve bu tabakanın kalınlığı incelmeye başlar. Tunica albuginea'nın gerilmesi ile kavernalardaki kanı boşaltacak olan venlere de basınç olur. Bu basınç penisteki kan dolaşımını kısmen engeller. Böylelikle penis büyür ve sertleşir. Genişleme özelliği son bulan tunica albuginea tabakası içten gelen basınca karşı direnerek penisin daha da genişleyip, uzamasına engel olur. Parasempatik sinir sistemi kontrolünde olan bu olayda parasempatik etkinin ortadan kalkması ile kan damarları daralır ve penise gelen kan volumü azalır. Penis dinlenme haline geri döner. Ereksiyon sürecinin devamı emilsiyon sürecidir. Bu süreçte testiste üretilen sperm hücrelerinin üretranın

proksimal kısmına ulaşmasını sağlayan kanal duvarlarındaki düz kasların kasılması yer alır. Ayrıca seminal vezikül ve prostat bezlerinde kasılması ile seminal sıvının da üretraya salınımı gerçekleşir. Devamında ejakülasyon adı verilen bir diğer fizyolojik olay gerçekleşir ki, bu olay sempatik sinirler yardımı ile olur. Ejakülasyon merkezi medulla spinalisin L1-2 segmentidir. Buradan çıkan sempatik sinir lifleri öncelikle plexus hypogastricus'a daha sonra dış genital organlara dağılmak için plexus prostaticus ve plexus corporis cavernosus'a gelir. Ejakülasyon sürecinde üretranın arka bölümünü dolduran ejakulat m. bulbocavernosus ve m. ischiocavernosus'un kasılmasını sağlayarak, ejakulatuñ üretradan dışarı atılmasını sağlar (Ekinci, 2011; Gadea ve ark., 2013).

2.2. Spermatogenez

Primordial germ hücreler, embriyonik gelişimin 4. haftasında vitellus kesesinin duvarında, endodermal hücrelerden köken alırlar ve intrauterin hayatın 5. haftasından itibaren gonadları oluşturacakları genital kabartıya doğru göç ederler. 6. hafta da göç büyük ölçüde tamamlanmış olur (Sadler, 2006; Schlegel ve ark., 2007; İrez ve Erkan; 2016). Seminifer kordların oluşumu ile birlikte germ hücreleri *gonadosit* olarak adlandırılır. Merkezi yerleşimli olan gonadositlerin sayısı doğumdan sonra artış gösteren sertoli hücreleri nedeni ile azalır. Seminifer tübüllerin bazal kısmına yerleşen gonadositler *spermatogonyum* olarak adlandırılır. Pubertenin başlaması ile gonadotropinler tarafından uyarılan testisin seminifer tübüllerinde sperm üretimi başlar. Spermatogonyumların bölünmeleri ve farklılaşmaları ile olgun sperm hücrelerinin oluşması sürecine *spermatogenez* adı verilir. Bu süreç yaklaşık 64 günde meydana gelmektedir (Güenalp, 2008; Sargın ve Arpalı, 2011). Spermatogenez üç aşamaya ayrılır. Bu aşamalar; mitoz ve mayoz bölünme ile spermiyogenez adı verilen olgunlaşma aşamasıdır.

2.2.1. Mitoz Bölünme Aşaması

Spermatositogenez denilen bu aşamada, seminifer tübüllerin bazal kısmında yer alan spermatogonyumlar mitoz bölünme ile farklı tipte spermatogonyumlara

dönüşür. Mitoz bölünme, hücre çoğalma sürecidir. 46 tek kromozom ve 2N miktarında DNA içeren kök germ hücre özelliğindeki her bir spermatogonyum mitoz bölünme geçirerek aynı kromozom ve DNA içeriğine sahip iki spermatogonyum daha oluşturur. Spermatogonyumlar, heterokromatin varlığına ve dağılımına göre spermatogonyum A ve B alt tiplerini oluşturur (Güenalp, 2008; Gadea ve ark, 2013; İrez ve Erkan, 2016). Tip A spermatogonyumlar, spermatogonyum Ad (A dark) ve spermatogonyum Ap (A pale) olmak üzere iki çeşittir. Spermatogonyum Ad, spermatogonyumların kök hücreleridir. Bu hücre grubu mitoz bölünmeler geçirerek spermatogonyum Ap'ye dönüşür. Ap spermatogonyumlar da B tipi spermatogonyumlara farklılaşır (Güenalp, 2008). Bir A tipi spermatogonyumun yeniden bölünebilmesi için 16 gün geçmesi gerekir. B tipi spermatogonyumlarda mitoz bölünme geçirerek primer spermatositleri oluşturur ve bu aşamada mitoz bölünme sonlanır (De Jonge ve Barratt, 2006; Schlegel ve ark., 2007).

2.2.2. Mayoz Bölünme Aşaması

Spermatogenezin mayoz bölünme aşaması, birinci mayoz ve ikinci mayoz olmak üzere iki aşamada gerçekleşir.

Mayoz 1

Mitoz bölünme ile oluşan primer spermatositler 46 tek kromozom ve 2N miktarında DNA içerir. Bu hücreler aktif DNA sentezi yaparak, her kromozomun DNA miktarını iki katına çıkarır ve preleptoten spermatositlere dönüşür. Bu spermatositlerin 46 tek kromozomu ve 4N miktarında DNA içeriği vardır. DNA miktarını iki katına çıkaran spermatositler birinci mayoz bölünmenin yaklaşık 22 gün süren profaz 1 evresine girerler. Profaz evresi; leptoten 1, zigoten 1, pakiten 1, diploten 1 ve diakinez 1 aşamalarından oluşur. Leptoten evresine giren spermatositler seminifer tübülün bazal kısmından lümeneye doğru yerleşirler. Zigoten evresinde, biri maternal diğeri paternal kökenli olan çift yapıları kromozomlar yan yana gelerek homolog kromozom çiftlerini oluşturur. Pakiten evresi, genetik materyalin değişime uğradığı profazın en uzun aşamasıdır. Diploten evresi, homolog kromozom

çiftlerinin kiyazma adı verilen birleşme noktaları dışında birbirlerinden ayrıldığı aşamadır. Diakinez'de ise, kromozomlar daha da yoğunlaşır ve etrafını çevreleyen çekirdek membranı parçalanarak, mayoz 1'in profaz aşaması tamamlanmış olur. Profaz 1 sonrasında metafaz 1, anafaz 1 ve telofaz 1 aşamaları hızlı bir şekilde devam eder. Metafaz 1 aşamasında, kromozomal çiftler ekvatoryal düzlem üzerinde dizilir. Anafaz 1 aşamasında, bu kromozomal çiftler birbirinden ayrılarak farklı kutuplara çekilir. Telofaz 1 aşamasında ise, birinci mayoz bölünme tamamlanmış ve sekonder spermatositler oluşmuş olur. Sekonder spermatositler, 23 çift kromozom ve 2N DNA içeriğine sahiptir.

Mayoz 2

İkinci mayoz bölünme ise mitoz bölünmeye benzer. Metafaz 2'de kromozomlar ekvatoryal düzlemde dizilirken, Anafaz 2 ile sentromer bölgelerinden ayrılarak farklı kutuplara yönelir. Telofaz 2 ile hücre bölünmeleri tamamlanarak her bir sekonder spermatositten 23 tek kromozom ve 1N'lik DNA içeriğine sahip ikişer tane olmak üzere toplamda dört tane spermatid oluşur (Brehem ve Steger, 2005; Gartner ve Hiatt, 2006;Günel, 2008; İrez ve Erkan, 2016).

2.2.3. Spermiyogenez

Bu aşama, mayoz bölünme ile oluşan spermatidlerin hücre bölünmesi olmaksızın, hareket ve fertilizasyon yeteneği kazanabilmeleri için geçirdiği morfolojik ve işlevsel farklılaşmaları içeren olgunlaşma sürecidir (Günel, 2008). Yaklaşık olarak 22 gün süren bu aşama golgi, başlık, akrozom ve olgunlaşma evresi olmak üzere dört evreden oluşur (Gupta, 2005; Schlegel ve ark., 2007).

Golgi evresi

Spermatid sitoplazmasında yer alan golgi organeli çekirdeğe yakın bir yerde bulunur. Endoplazmik retikulum organelinde üretilen ve salgılanan bazı enzimler

modifiye olmak için golgi organeline gelir. Enzim yapısında değişiklikler oluştuktan sonra küçük veziküller şeklinde golgi organelinin trans yüzünden tekrar salınır. Küçük veziküller bir araya gelerek, akrozomal vezikülü oluşturmak için spermin ön yüzünü oluşturacak bölmede çekirdek zarına tutunur. Sentioller de oluşan akrozomal vezikülün zıt yönüne doğru yer değiştirir. Distal ve proksimal olmak üzere iki sentriol vardır. Distal sentriol aksonemi oluştururken, proksimal sentriol çekirdeğe yapışarak, bağlantı parçasının oluşumuna katılır.

Baş evresi

Akrozomal vezikül, çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde çekirdek zarının etrafını kuşatır ve akrozomu oluşturur.

Akrozom evresi

Çekirdek yapısında yer alan kromozomlar daha yoğunlaşır ve çekirdek hacmi azalarak daha uzun bir şekil alır. Sperm çekirdeğinden distale doğru silindir şeklinde bir yapı uzanır. Bu yapı içerisinde birbirine paralel uzanan çok sayıda mikrotübül yapıları vardır. Silindirik yapı uzadıkça, sitoplazma içerisinde yer alan mitokondrileride kuyruk yönünde taşır ve kuyruğa ulaştığında mikrotübül yapıları kaybolarak, kuyruğun orta parça ve esas parçasını ayıran anulus adı verilen hattı oluşturur. Ayrıca kuyruğun fibröz kılıfı da bu evrede tamamlanır (Sargın ve Arpalı, 2011).

Olgunlaşma evresi

Gereksiz sitoplazma artık cisim olarak, sertoli hücrelerinin fagositoz yapma özelliği ile sperm hücrelerinden uzaklaştırılır. Mitoz ve mayoz bölünmeler de olmak üzere bu aşamaya kadar sperm hücreleri birbirleri ile bağlantılar yaparak, sinsityum oluşturmuşlardır. Bu aşamada ise sertoli hücrelerinden kurtulup, sinsityal yapılarını değiştiren sperm hücreleri seminifer tübül lümenine bırakılırlar. Bu olaya

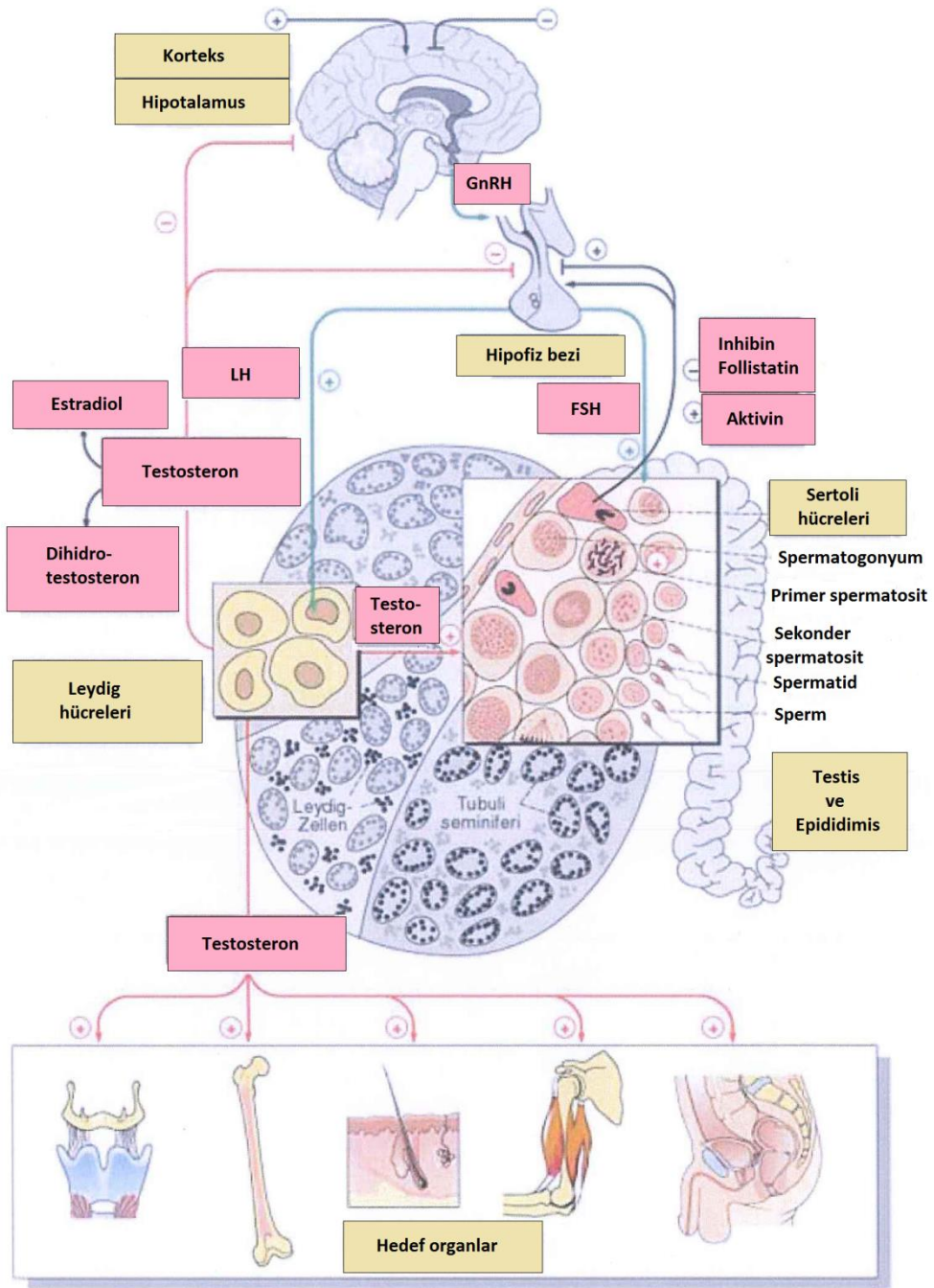
spermiyasyon denir (Günel, 2008; Sargın ve Arpalı; 2011). Bu süreç özellikle hormonal değişiklikler, sıcaklık ve toksinler tarafından etkilenebilir. Fakat bu duyarlılığın nedenleri henüz bilinmemektedir. Seminifer tübül lümenine salınmayan sperm ise, sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir (Weinbauer ve ark., 2010).

Spermiyasyon ile seminifer tübül lümenine bırakılan sperm hücreleri yumurtayı dölleme yeteneğinde değildir. Sperm hücreleri bu yeteneklerini özellikle epididimis olmak üzere erkek üreme sisteminde kazanırlar (Günel, 2008).

2.3. Spermatogenezin Hormonal Kontrolü

Sperm ve androjen üretilmesini içeren testiküler fonksiyonlar, folikül stimulan hormon (FSH) ve lüteinizan hormon (LH) ile klasik bir endokrin geribildirim döngüsü tarafından düzenlenir (Sofikitis ve ark., 2008). Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) pulsatil hipotalamik salınım göstererek ön hipofiz tarafından FSH ve LH salınımına neden olur. GnRH, hipotalamusta sentezlenen ve hipotalamik-hipofizyal dolaşım sistemi sayesinde ön hipofiz bezine taşınan bir dekaeptittir. GnRH'ın hipofiz gonadotropundaki reseptörlere bağlanması hem FSH hem de LH'ın salınmasına neden olur.

FSH ve LH, α ve β olmak üzere iki alt birime sahip heterodimerik glikoproteinlerdir. İki hormon içinde α alt birimler aynı yapıda olup, 92 amino asit içerir. Fakat β alt birimler farklı yapıdadır. LH 121 amino asitten oluşan bir β alt birimine sahipken, FSH ise 118 amino asitten oluşan bir β alt birimine sahiptir. Her iki hormon da testiküler seviyede hareket eder (Gadea ve ark., 2013). LH, seminifer tübüller arasındaki interstisyumda yer alan Leydig hücrelerinin testosteron salınımını sağlar. Testosteron, seminifer tübüllerdeki germ hücrelerinin olgunlaşmasını uyarak spermatogenez başlatan ve devam etmesini sağlayan önemli bir hormondur. Gametogenez etkilerinin yanında saç büyümesi, kemik metabolizması, kas dağılımı, ikincil cinsiyet özellikleri ve erkek üreme organlarının fonksiyonu üzerine önemli rol oynamaktadır (Nieschlag ve ark, 2008; Sargın ve Arpalı, 2011). Kandaki en önemli ve bol miktarda bulunan androjen testosterondur. Günde 6-7 mg testosteron sentezleyen testis, mevcut androjenlerin % 95'inden fazlasını oluşturur.



Şekil 2.6. Testis fonksiyonlarının hormonal düzenlenmesi ve androjenlerin etkileri (Nieschlag ve ark., 2008'ten uyarlanmıştır).

Androjen üreten bir diğer kaynak ise adrenaldir. Testosteron sentezleyen leydig hücreleri androjenleri depolayamadığından sürekli olarak biyosentez gerçekleştirir. Metabolizmanın temel maddesi kolesteroldür. Birçok hücre kolesterolü membran sentezi için kullanırken, leydig hücreleri kolesterole tüm steroid hormonların temel öncül maddesi olduğu için gereksinim duyar (Lei ve

ark.,2001; Sriraman ve ark., 2005; Eacker ve ark., 2008). FSH ise direkt olarak seminifer tübüllerde yer alan sertoli hücrelerine etki eder. Germinal epitelde sadece sertoli hücreleri testosteron ve FSH reseptörlerine sahiptir. Testosteron, spermatogenez üzerine biyolojik etkilerini sertoli hücrelerinde bulunan androjen reseptörleri ile sağlar. Testis ve hipotalamik-hipofizyal dolaşım sistemi arasında iletişim, steroidler ve protein hormonlar aracılığı ile sağlanır (Nieschlag ve ark, 2008; Gadea ve ark., 2013). Testosteron negatif geri bildirim yolu ile GnRH ve gonadotropinlerin salgılanmasını azaltır. Sertoli hücreleri de FSH'ın hipofizden salınımını önleyen inhibin B ve aktif hale getiren aktivini de salgılamaktadır. Bu endokrin kontrol sayesinde spermatogenez için uygun bir ortam sağlanır (Sargın ve Arpalı; 2011).

2.4. Spermin Taşınması ve Olgunlaşma Süreci

Spermiyogenez sonunda oluşan hücreler morfolojik olarak olgun hücrelerdir. Fakat hareketsiz oldukları için fertilizasyon yetenekleri yoktur. Seminifer tübüllerde oluşan spermler testiküler sıvı ile rete testise, daha sonra da duktuli efferentes ve epididimisin baş bölgesine gelirler. Testiküler sıvının basınç özellikleri, duktuli efferenteslerin silyalı hücrelerinin hareketi ve düz kas hücrelerinin kasılması ile sperm hücreleri epididimis boyunca ilerler (Elder ve Dale, 2003; Carslon, 2009). Epididimiste meydana gelen ve spermin fertilizasyon yeteneği kazanması işlemine *sperm olgunlaşması* denir. Bu süreç, spermin birçok fizyolojik, biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerini içerir (Cooper, 1998).

Epididimal olgunlaşma sürecinde; spermin baş bölgesinde negatif yük artar ve sentezledikleri hyaluronidaz, fertilin, proakrosin, 1,4-galaktoziltransferaz gibi yumurta hücrelerine bağlanmayı sağlayan antijenlerin epididimiste aktif hale gelmesi ile sperm yumurta hücrelerine bağlanma yeteneği kazanır (Elder ve Dale, 2003). Epididimal sekresyonlar spermin olgunlaşmasında çok önemlidir (Cooper, 1998). Epididimis salgısında, yüksek konsantrasyonda üç düşük molekül ağırlıklı salgı maddesi bulunur. Bu moleküller; L-karnitin, myo-inositol ve gliserofosfokolin olup organik osmolit özelliği göstererek, spermin epididimiste depolanmasını ve kadın genital yolunda ilerlerken canlı kalmasında rol oynar (Cooper ve ark., 1991). Sperm

hücresi epididimisin baş bölgesinden kuyruk bölgesine doğru ilerlerken, ATP, cAMP ve Mg etkisinde kalarak hareket etme özelliği kazanır. Ayrıca epididimal salgıda bulunan transferin ve karnitin moleküllerinin de ileri hareketten sorumlu olduğu düşünülmektedir (Elder ve Dale, 2003).

Sperm hücresinin epididimiste kalma süresi 2-11 gün arasındadır. Bu organda sperm olgunlaşır ve ejakülasyona kadar depo edilir (Johnson ve Varner, 1988). Epididimisin kuyruk bölümünde depo edilen sperm, vas deferensin kalın kas tabakasının kasılmasıyla üretraya geçer. Sperm, bulunduğu bu salgıya seminal vezikül ve prostat bezi sekresyonları da katılarak ejakulat denilen bir salgı halinde penis yolu ile dışarı atılır (Carson, 2009).

2.5. Ejakulat (Semen) Oluşumu

Testiküler, epididimal ve aksesuar bezlerin salgılarının aksine ejakulat vücutta yoktur. Sadece ejakülasyon zamanında, bu organlardan gelen salgıların birleşmesi ile oluşur (Cooper ve Yeung, 2010). Semen içeriği Tablo 2.1'de olduğu gibi dört kısımdan oluşur.

Tablo 2.1. Semen içeriğinin dağılımı (Sunderman ve Boerner, 1950).

| | |
|----------------------------|--|
| Ejakülasyon öncesi: | Bulbouretral bezden salgılanan açık renkli birkaç damla sıvı |
| Semenin ilk kısmı: | Prostat kaynaklı ve spermden sınırlı sıvı |
| Semenin orta kısmı: | Testis, epididimis ve vas deferens kaynaklı, spermden çok zengin |
| Semenin son kısmı: | Seminal vezikül kaynaklı |

Ejakulat hacminin yaklaşık % 90'ını prostat ve seminal vezikül salgıları, kalanı ise bulbouretral bezler ve epididim salgıları ile oluşur (Weiske, 1994). Prostatik salgı; sitrik asit, asit fosfataz, prostat spesifik antijen, çinko ve magnezyumdan zengindir. Seminal vezikül salgısı; sperm enerjisi kaynağı olan fruktoz ve prostaglandinden zengindir. Ejakulatın pıhtılaşması, prostattan gelen çinko ile birleşen seminal veziküllerdeki çinko bağlayıcı protein olan semenogelin I ile sağlanır. Bu şekilde sperm hareketsiz kalır (Yoshida ve ark., 2008). Ayrıca epididimal salgıda bulunan CD 52'de pıhtı içinde spermi tutan bir semenogelin reseptörüdür (Flori ve ark., 2008). Semen pıhtılaşmasını sağlayan bu kompleks yapı prostat spesifik antijenin proteolitik etkisi ile çözünür (Jonsson ve ark., 2005). 20-30 dakika içinde oluşan sıvılaşma sırasında ve sonrasında semenin osmolalitesi artar ve CD 52 bölünerek spermlerin pıhtıdan ayrılmasını sağlar (Cooper ve ark., 2005). Yaklaşık 40-250 milyon sperm içeren ejakulat, seminal veziküllerden gelen alkali ve prostattan gelen asidik salgılar nedeni ile pH 7.2-7.8 arasındadır (Carson, 2009). Bulbouretral bezler ise, üriner sistemin asiditesini nötralize eden glikoproteinlerden oluşmuş alkali bir solüsyon salgılar ve ejakülasyon öncesi geçtiği yolu yağlar (Cooper ve Yeung, 2010).

Ejakulatı oluşturan ve erkek üreme organlarından gelen salgılar infertilitenin olası nedenlerini teşhis etmek için analiz edilir. Bu analiz bezlerin varlığı, salgılama miktarı, işleyişi veya tıkanıklığı hakkında bilgi verir (Cooper ve Yeung, 2010).

2.6. Erkek İnfertilitesi ve Değerlendirilmesi

Seksüel olarak aktif olan çiftlerin herhangi bir korunma olmaksızın, en az bir yıl boyunca düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen (ortalama haftada iki kez beraber olmak düzenli cinsel hayat olarak kabul görmekte), gebeliğin oluşmaması durumu *infertilite* olarak tanımlanmaktadır. Eğer hiç gebelik oluşmuyorsa bu duruma *primer infertilite*, daha önce canlı doğumla sonuçlanmış ya da sonuçlanmasın en az bir gebelik gerçekleştiyse ve bu gebeliğin ardında başka gebelik elde edilmiyor ise bu duruma *sekonder infertilite* adı verilir. Gebelik için hiçbir şansın olmaması durumu *sterilite* olarak tanımlanmaktadır. Bir menstürel siklusta, gebe kalma olasılığı *fekundabilite* olarak tanımlanırken, sağlıklı çiftlerde bir ayda gebe kalma

olasılığı % 20-25, 6 ayda % 75 ve bir yılda ise % 90'dır (Spira, 1986; Delilbaşı, 1997; Duru, 1998).

Eskiden infertilite nedenlerinin kadın kaynaklı olduğu düşünülüyordu. Dünya Sağlık Örgütü (WHO-World Health Organisation) bunun üzerine 1993 tarihinde 7273 infertil çift üzerinde infertilite nedenlerini araştıran bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmaya göre toplumun yaklaşık % 15'inde infertilite sorunu ortaya çıkmış ve infertil çiftlerin % 41'inde sadece kadın, % 24'ünde sadece erkek, % 24'ünde erkek ve kadın faktörü birlikte görülürken, geriye kalan oranın infertilite kaynağı belirlenememiştir. Erkek infertilitesi tek başına ve kadın faktörü ile birlikte tüm infertil vakaların yaklaşık yarısını oluşturmaktadır (WHO, 1993). Bu sebeple erkek fertilizasyon potansiyelinin değerlendirilmesinin mutlaka araştırmaların erken dönemlerinde yapılması gerekmektedir.

Erkek infertilitesinin; ürogenital enfeksiyonlar, cinsel faktörler, doğumsal anomaliler, varikosel, endokrin bozukluklar, immünolojik faktörler gibi pek çok nedeni vardır (WHO, 2000). Bu nedenlerin yaklaşık % 40-60'ı belirlenebilirken, büyük çoğunluğunun nedeni ortaya konulamamaktadır. Erkek infertilitesi varsa çoğunlukla anormal semen analizi ile ortaya çıkar. Anormal semen analizinden sorumlu neden bulunamıyorsa bu durumda *idiopatik infertilite* tanımı yapılmaktadır. Nadiren semen analizi sonuçları normal olup, yumurtayı döleyemeyen spermelerde olabilmektedir (Günalp, 2008). Dolayısıyla erkek infertilitesi değerlendirilmesindeki amaçlar;

- Var olan sorunun belirlenip tedavi edilip edilememesi,
- Eğer tedavi edilemeyen bir sorun varsa, erkek spermi kullanılarak yardımcı üreme tekniklerinin uygulanması ile başarı sağlanacak ya da sağlanamayacak hasta grubunun belirlenmesi,
- İnfertilitenin altında yatan ve sağlığı tehdit ederek, tıbbi tedavi gerektiren hasta gruplarının belirlenmesi,
- Yardımcı üreme teknikleri ile dünyaya gelecek çocukların sağlığını bozacak genetik hastalıkların varlığının incelenmesi şeklinde belirlenir (Sharlip ve ark., 2002).

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesi; hasta öyküsünün dikkatle alınmasını, konuda uzman kişi tarafından yapılmış tam fizik muayeneyi, rutin semen analizini, gerektiği durumlarda daha gelişmiş semen analizini, ürolojik, endokrinolojik ve genetik açıdan incelemeyi kapsamalıdır (Arslan ve ark., 2006). Erkek faktörünün incelenmesi sırasında yapılacak ilk laboratuvar değerlendirme semen analizidir. Dikkatli bir şekilde yapılan semen analizi, testislerin sperm üretimi ve aksesuar bezlerin çalışması hakkında sağlıklı bilgi almamızı sağlar.

2.7. Semen Analizi

Semen analizi, erkek fertilité potansiyelini öngörmek için en yaygın kullanılan biyobelirteçtir. (Esteves ve ark., 2012). Seminifer tübüllerin, epididimis ve aksesuar seks bezlerinin fonksiyonel durumu hakkında bilgi verir ve sonuçları genellikle erkeğin üreme potansiyelini ortaya koyar. Cinsel üretkenlik dönemindeki erkekler incelendiğinde % 6'sında infertilite sorunu görülmektedir. Bu vakaların yaklaşık olarak % 90'ında bozulmuş sperm üretimi vardır (Günel, 2008). Varolan infertilite çoğu zaman anormal semen analizi sonuçları ile ortaya çıkar. Pek çok semen parametresi fertil ve infertil erkeklerin birbirinden ayrılması için kullanılmaktadır. En sık kullanılan parametreler; sperm konsantrasyonu, hareket, ileri hareket ve sperm morfolojisidir. Her bir parametre klinik tanı için önemli olup, bir bütün olarak değerlendirilmelidir. Ancak literatürler incelendiğinde sperm morfolojisi, üzerinde en çok tartışılan tek sperm göstergesidir (Kruger ve ark., 1988; WHO, 1999).

Semen analizi günümüz laboratuvar koşullarına bakıldığında yapılması gereken ilk ve en basit test olarak bilinse de, belirli bir standardizasyonu sağlanmamış incelemeler klinisyenleri yanlış yönlendirmektedir. Semen analizindeki standardizasyona duyulan ihtiyaç sebebi ile Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) periyodik olarak insan semeninin laboratuvar incelenmesi ve işlenmesi için el kitapları yayımlamaktadır. Laboratuvarlar bu el kitaplarını semen analizi yapabilmek için standartlaştırılmış yöntemlerin pratik bir klavuzu olarak kullanırken, klinisyenler ise semen analiz sonuçlarının yorumlanması için normal sınırların referansına güvenirlir. 1980 yılında yayımlanan ilk el kitabı önceki 80 yıllık klinik deneyimleri

ve araştırmaları özetlemektedir. 1987, 1992, 1999 ve 2010 yıllarındaki güncellemelerde DSÖ'ü, semen parametrelerinin değerlendirilmesine ilişkin önemli gelişmeler sağlamaktadır. DSÖ'ü son beşinci baskıyı (2010) yayımlarken, önceki el kitaplarında tanımlanan tüm yöntemleri ayrıntılı bir şekilde gözden geçirip, güncellemiş ve yeni protokoller, testler eklemiştir. Bu doğrultuda daha önce normal erkek fertilitesi ile uyumlu olduğu düşünölen referans değerler de değişmiştir (WHO, 1987; WHO, 2010). Son beşinci baskıda semen analiz referans değerleri bir önceki baskıdaki referanslara göre Tablo 2.2'de göröldüğü üzere belirgin olarak daha düşüktür (Barratt ve ark., 2011; Yerram ve ark., 2012).

Tablo 2.2. DSÖ 1999 ve 2010 kriterlerinde yer alan en düşük referans değerlerin karşılaştırılması (WHO, 2010).

| Semen Parametreleri | 1999 | 2010 |
|--|-------------|-------------|
| Semen Volümü (ml) | 2.0 | 1.5 |
| Total Sperm Sayısı (10^6 /ejakulat) | 40 | 39 |
| Sperm Konsantrasyonu (10^6 /ml) | 20 | 15 |
| Total motilite (PR+NP, %) | 50 (a+b) | 40 (a+b+c) |
| Progressive motilite (PR, %) | 25 (a) | 32 (a+b) |
| Vitalite (Canlı sperm,%) | 75 | 58 |
| Sperm morfolojisi (normal formlar, %) | 14 | 4 |
| Lökosit (10^6 /ml) | <1.0 | <1.0 |

DSÖ'ü beşinci baskıdaki referans aralıkları, fertil erkeklerin semen kalitesini karakterize eden veriler kullanarak belirlemişlerdir (Cooper ve ark., 2010). 12 ay veya daha kısa sürede babalık geçmişi olan erkekler fertil erkek olarak kabul görmüş ve çalışma sadece bu grup ile sınırlandırılmıştır. Çalışmaya yaş ortalaması 31 olan, sadece 10 tanesinin 45 yaş üstü olduğu yaklaşık 1953 erkek katılmıştır. 3 kıtada, 7 ölkenin fertil özellikteki erkeklerinin semen analizi sonuçlarından elde edilen ham veriler toplanıp, değerlendirilmiştir (Auger ve ark., 2001; Stewart ve ark., 2009). Bu erkeklerin yaklaşık 1900 tanesinin semeni sperm sayısı, motilite ve hacim

değerlendirmek için kullanılmıştır. Sperm morfolojisi hakkındaki veriler yaklaşık 1800 erkeği kapsayan dört çalışmadan elde edilirken, eozin-nigrozin yöntemi ile değerlendirilen sperm canlılığı iki ülkede yaklaşık 400 erkekten elde edilmiştir (Auger ve ark., 2001; Swan ve ark., 2003; Haugen ve ark., 2006; Stewart ve ark., 2009). Çalışmaya katılan erkek grubu büyük şehirlerde yaşayan küçük bir erkek grubunu kapsamıştır. Asya, Orta Doğu, Latin Amerika ve Afrika'daki erkeklerin çalışmada yer almaması 2010 referans standartlarının dünyanın dört bir yanındaki verimli erkeklerin dağılımını temsil edemediğini göstermiştir (Cooper ve ark., 2010). Bu değerlendirmeler sonucunda belirlenen referans aralıklarına göre 1999 DSÖ'ü kriterlerine dayanarak anormal olarak değerlendirilen 982 erkek 2010 kriterlerine göre tekrar değerlendirilmiş olup, bu erkeklerin yaklaşık % 39'u normal olarak yeniden sınıflandırılmıştır. DSÖ tarafından önerilen referans değerler yalnızca yakın zamanda babalık geçmişi olan sınırlı sayıda erkeklerin semen parametrelerini temsil ettiği için infertil çiftleri tedavi eden uzmanlar semen analizi yanında, hastanın kapsamlı öyküsü, uygun bir fizik muayene, endokrin, genetik ve diğer araştırmalarında kapsamalıdır (Esteves ve ark., 2012).

Erkek infertilitesinde laboratuvar değerlendirilmesinin ilk aşaması olan semen analizinin en az 4 hafta ara ile belirli bir standartizasyona göre yapılmış olması gerekir (Speroff ve Fritz, 2010). Çünkü sağlıklı görünen erkeklerin semen parametrelerinde bile zamansal ve mevsimsel farklılıklar görülebilir. Bu nedenle birden fazla semen analizinin yapılması sonuçların doğruluğu açısından önemlidir. Semen analizin standart muayenesi; örneğin toplanması, makroskopik değerlendirme ve mikroskopik değerlendirmeyi içerirken, gerektiği durumlarda semen ve sperme ait özel klinik testleri, genetik, endokrinolojik ve mikrobiyolojik değerlendirmeleri de içermelidir.

2.7.1. Semen Örneğinin Toplanması

Belirli bir standarta göre yapılan semen toplama işlemi, analiz sonuçlarının karşılaştırılmasında ve doğru tedavi protokollerinin uygulanmasında son derece önemlidir. Buna göre;

- Hasta numune vermeden önce detaylı tıbbi öyküsü alınmalıdır. Cinsel yolla bulaşan hastalık, hepatit, kabakulak geçirip geçirmediği, varikosel ve kronik hastalık durumu, ilaç, alkol ve sigara kullanımı üzerinde durulmalıdır.
- Semen örneğinin en az 2, en fazla 7 günlük bir cinsel perhiz süresi ile alınması gerekmektedir. Perhiz süresinin daha kısa olması semen hacmi ve yoğunluğunun azalmasına, daha uzun olması ise semen hacminin, yoğunluğunun, ölü, hareketsiz ve morfolojik olarak anormal sperm oranlarının artmasına neden olmaktadır.
- Semen toplamasında tercih edilen yol masturbasyondur. Çünkü semenin tamamı sadece bu yolla toplanabilmektedir. Eğer masturbasyon yolu ile numune verilemiyor ise spermisidal ajanlar içermeyen, özel olarak üretilmiş prezervatifler kullanılarak ilişki sırasında da numune toplanabilir. Doğum kontrol amaçlı kullanılan prezervatifler spermisidal fonksiyona sahip oldukları için tercih edilmemelidir.
- Sperm hücreleri semen içinde homojen olarak dağılmamaktadır. Numunenin eksik verilmesi analiz sonuçlarını etkilemektedir. Bu nedenle semen toplanırken dışarı kaçırılmamasına ve dökülmemesine dikkat edilmelidir.
- Semen toplanan kapların sperm üzerine toksik olmayan, tek kullanımlık, kuru ve geniş ağızlı kaplar olmasına dikkat edilmelidir. Numune kaplarının üzerinde hasta adı ve soyadı belirtilmiş olmalıdır.
- Masturbasyon sırasında krem veya sabun gibi kayganlaştırıcı maddeler kullanılmamalıdır. Numuneye dışarıdan su da dahil olmak üzere hiçbir yabancı madde kontaminasyonu olmamalıdır.
- Semen örneğinin, laboratuvarın içinde veya yakınındaki bir ortamda toplanması en uygundur. Stres ve gerilimin semen parametreleri üzerine negatif etkileri olabileceği unutulmamalı, hastanın kendisini rahat hissedeceği bir ortamda toplama işlemi yapılmalıdır. Eğer toplama işlemi evde yapılacaksa, semen örneğinin vücut ısısında muhafaza edilerek, çalkalamadan hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırılması gerekmektedir.
- Alınan semen örneği en fazla 1 saat içinde incelenmelidir (Kayıkçı ve ark., 2002; Speroff ve Fritz, 2010).

2.7.2. Semen Makroskopik Değerlendirilmesi

Makroskopik incelemede semen içeriği; renk ve koku, likefaksiyon (sıvılaşma), viskozite, hacim ve pH gibi semenin görünümünü tanımlayan parametreler açısından değerlendirilmektedir.

Renk ve Koku

Taze ve normal bir semen visköz, homojen, gri-beyaz ve opaktır. Sperm konsantrasyonu azaldıkça opak görünümde azalır. Rengin beyaz olması; sperm konsantrasyonunun yüksek olduğuna, sarı olması; cinsel perhiz süresinin uzamış veya enfeksiyon olduğuna, kırmızı-kahverengi renkte olması ise; ürogenital sistem kanamalarından kaynaklı semende eritrosit varlığını göstermektedir. Semen kendine özgü kestane çiçeği kokusundadır ve bu kokunun prostat sıvılarının neden olduğu sperm oksidasyonu sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Koku da perhiz süresi ve enfeksiyona bağlı olarak değişebilmektedir (Giezerman ve Bartoov, 1986; Kayıkçı ve ark., 2002; Cooper, 2010).

Likefaksiyon (Sıvılaşma)

Ejakülasyon sırasında akışkan olan semen, numune kabına toplandığında seminal vezikül salgısı içinde bulunan semenogelin I proteini sayesinde koagüle olur. Bu aşamada numuneye makroskopik olarak bakıldığında içerisinde heterojen topaklar görülür. 37°C'ye ayarlanmış inkübatöre alınarak semenin homojen ve sıvı gibi bir hal alması beklenir. Semen, prostat salgısında bulunan proteolitik enzimler aracılığı ile sıvılaştığı bu sürece likefaksiyon denir. Bu süreç genelde yaklaşık 20 dakika sürer. Likefaksiyon süreci makroskopik olarak tanımlanabildiği gibi mikroskopik olarak da anlaşılabilir. Likefiye olmamış örneklerde sperm hücreleri hareketsizdir. Sıvılaşma ile hareket kazanır. Likefaksiyon süresinin 60 dakikadan fazla olması patolojik olarak kabul edilir. Bu durum likefaksiyondan sorumlu prostat bezinin fonksiyonlarının yetersiz olduğunu düşündürmektedir. Likefaksiyon olmadığı durumlarda mekanik karıştırma veya enzim kullanarak sıvılaşma

sağlanabilir. Bu işlem sperm hücresini olumsuz etkilese de yapılmalıdır. Çünkü likefiye olmayan semen örneklerinin mikroskopik incelemesi mümkün değildir (Örmen ve Önvural, 2003; WHO, 2010).

Viskozite

Normalde likefiye olmuş semenin düşük viskozitesi vardır. Ejakülasyondan sonra visküz özelliğini koruyan ve zamanla değişmeyen semen *hipervisköz* olarak kabul edilir. DSÖ'ne göre teşhis, likefiye olmuş semenin oluşturduğu iplik uzunluğunun ölçümüne dayanmaktadır (WHO, 1999). Viskozite tayini, semen örneğinin plastik, tek kullanımlık ve yaklaşık 1,5 mm çapında bir pipet içine nazikçe aspire edilip, sonrasında yerçekimi ile düşmesine izin verilerek yapılmaktadır. Normal bir numune, pipeti küçük ve birbinden ayrı damlalar halinde terk ederken, viskozitesi artmış numune ise 2 cm'den uzun bir iplik oluşturacak şekilde terk eder. Alternatif olarak numuneye bir cam çubuk yerleştirilip, çubuğun çekilmesi ile oluşan ipliğin uzunluğunu gözleyerek de viskozite tayini yapılabilir. İplik uzunluğunun 2 cm'yi aştığı durumda viskozite anormal olarak kaydedilir (WHO, 1999). Bu değerlendirme semenin visko-elastikiyetini ölçer. Kısmen likefiye olmuş bir semenin aksine visküz bir semen numunesi homojen yapışkanlık gösterir ve zamanla kıvamı değişmez.

Viskozite derecesini belirlemek için semen damlalarının iplik uzunlukları bir santimetre skalasında ölçülebilir. Damla uzunluğu 2-4 cm arasında olan semen hafif hipervisköz, 4-6 cm arasında olan ılımlı hipervisköz, 6 cm'den daha fazla olanlar ise şiddetli hipervisköz olarak sınıflandırılır. İnfertil çiftler üzerinde yapılan bir çalışmaya göre hiperviskozite prevalansının % 26,6 gibi yüksek oranda olduğu gösterilmiştir. Bu hasta grubunun % 13,1'ini hafif hiperviskozite, % 6,6'sını ılımlı hiperviskozite, % 6,4'ünü şiddetli hiperviskozite oluşturmuştur (Elia ve ark., 2009).

Koagülasyon ve likefaksiyon sonrası anormal semen viskozitesinin kesin nedeni bilinmemekle birlikte, en çok aksesuar bezi enfeksiyonu, artan lökosit seviyeleri ve inflamasyon ile aksesuar bezlerin işlev bozukluklarının neden olduğu düşünülmektedir (Pomerol, 1994). Yapılan çalışmalar hiperviskozitenin düşük sperm

konsantrasyonu, düşük sperm motilitesi, düşük sperm canlılığı ve seminal veziküllerin hipofonksiyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Normal viskozite için seminal veziküllerin düzgün işleyişinin olması gerekir. Prostattan salgılanan ve likefaksiyon sürecinde yer alan bir proteolitik enzim olan prostat spesifik antijen, hipervisköz örneklerde düşük seviyede bulunmuştur (Gonzales ve ark., 1993; Elzanaty ve ark., 2004). Genetik faktör etkisi ile de hiperviskozite geliştiği ortaya konulmuştur. Yapılan bir çalışma ile kistik fibroz ve hiperviskozite arasında bir ilişki bulunmuştur (Rossi ve ark., 2004).

Hiperviskozite ve bu duruma katkısı olan faktörler, sperm ve semen parametrelerini olumsuz etkilemektedir. Hipervisköz semenin; motilite, hız ve spermlerin doğrusal yönelmesi gibi kinetik parametrelerini etkilediği gözlenmiştir (Mendeluk ve ark., 1997). Ayrıca kadın üreme kanalındaki normal sperm hareketini de bozarak infertiliteye yol açabilmektedir. Anormal viskoziteli semen örneklerinde yapılan çalışmalarla, sperm kromatin bütünlüğü, normal semen viskozitesi olan numunelerle kıyaslandığında anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur (Gopalkrishnan ve ark., 2000). Yapılan çalışmalar viskozitesi artmış numunelerin sperm sayısında belirgin bir azalma olduğunu ortaya koyarken, çinko konsantrasyonu ile sperm sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir pozitif korelasyon bildirmiştir (Mankad ve ark., 2006).

Hacim

Semen hacminin büyük kısmı seminal veziküller ve prostattan, daha az miktarda ise bulbouretral bezler ve epididimden gelen salgılarla oluşmaktadır. DSÖ'nün 2010 kriterlerinde semen hacminin alt sınırını belirlemek için kullandığı normal semen örneklerinin % 95'ten fazlasının 2 ml'den küçük olması sebebi ile (% 95 güven aralığı 1,4-1,7 ml), 1999'da 2 ml olan alt sınır değer, 2010 tarihinde yayımlanan kriterler de ise 1,5 ml'ye düşmüştür. Eğer hacmin alt sınırı 1999'da ki referanslarda kalsaydı, 2010 kriterlerini belirlemek için çalışmaya alınan erkek gruplarının tamamına yakınının semen hacim parametresi anormal kabul edilecekti (Chiles ve Schlegel, 2015).

DSÖ'ne göre hacmi değerlendirmek için kullanılan en doğru metot, numunenin toplandığı kap ile tartılarak hesaplanmasıdır. Bu yöntemde göre; semen önceden tartılmış ve ağırlığı belirlenmiş temiz bir kap içine alınmaktadır. Daha sonra kap, içerisinde semen ile birlikte tekrar tartılıp, toplam ağırlıktan kabın başlangıçtaki ağırlığı çıkartılmaktadır. Semen dansitesi 1,043 ve 1,102 g/ml arasında değişmektedir. Semen dansitesini 1 g/ml olduğunu varsayarak, numunenin ağırlığından hacim hesaplanabilmektedir. DSÖ 2010 kriterlerini belirlerken 1953 tane semen numunesinin 1582 tanesini bu metodolojiye göre değerlendirmiştir. Geriye kalan numuneleri dereceli silindire aktararak analiz etmiş ve 0,9 ml'ye kadar ulaşan hacim kayıplarının var olduğunu ortaya koymuştur. Dolayısıyla pipet ve şırınga ile aspire edilerek veya ölçüm silindirine aktararak hesaplanan hacimler, numunenin tamamı alınmadığı için önerilmemektedir. Hacmi değerlendirmek için kabul edilebilir bir diğer metot ise; numuneyi minimum 0,1 ml aralıklı derecelendirilmiş silindire doğrudan toplamaktan ibarettir. Bu teknisyenlerin numuneyi aktarma ihtiyacı olmaksızın doğrudan birincil toplama kabında hacmin okunmasına izin verir (Auger ve ark., 1995; WHO, 2010, Chiles ve Schlegel, 2015).

Normal bir semen hacmi 1,5-5,0 ml arasında olmaktadır. 1 ml'den daha az olması *hipospermik* olarak adlandırılıp, sebebi semenin eksik bir şekilde toplanmasına veya cinsel perhiz süresinin kısa oluşuna bağlı olabildiği gibi, boşaltım kanallarının tıkalı oluşuna, doğumsal bilateral vas deferens yokluğuna (CBAVD), hipogonadizm ve retrograd boşalmayada bağlıdır. CBAVD tanısı olan 105 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada ortalama semen hacmi 0,7 ml'dir (Weiske ve ark., 2000). CBAVD hastalarının çoğunda vas deferens ile aynı embriyonik kökenden gelişen seminal veziküller yoktur. Bu durum da hacim kaybına neden olmaktadır. Hipogonadik erkeklerde ise hacim kaybı, testiküler androjenlerin eksikliğine bağlı olarak seminal vezikül ve prostatın yeterince üretim yapamamasından kaynaklanmaktadır. Herhangi bir azospermi vakası veya semen hacminin 1 ml'den düşük olduğu durumlarda retrograd boşalma da akla gelmelidir. Retrograd boşalmada tanı ejakulasyon sonrası idrarda sperm bulunması ile doğrulanmaktadır. Eğer semen hacmi 6 ml'den daha fazla ise *hiperspermik* olarak adlandırılıp, sebebi cinsel perhiz süresinin uzun oluşu, aksesuar bezlerde oluşan inflamasyona bağlı eksüdasyon ve numune toplama işlemi sırasında örnek kabına su, idrar vs kontaminasyonudur (Speroff ve Fritz, 2010).

pH

Seminal veziküllerin alkali salınımı ile asidik özellikte prostatik salgı arasındaki denge semenin pH'sını belirlemektedir. Likefiye olmuş semenin pH'sı için düşük referans değeri 7,2'dir. Kronik inflamatuvar hastalıklar, atrofiye uğramış testisler, semende prostatik salgı miktarının artması ve idrar kontaminasyonu gibi durumlarda pH asitleşir. CBAVD'li hastalarda semen pH'sı seminal veziküllerin bulunmaması sebebi ile 6,8'den düşüktür. Prostatik yetmezlik veya uzun süre beklemiş numunelerde seminal plazma sürekli olarak CO₂ oluşturduğu için pH yükselir. Bu nedenle pH ölçümü semen likefiye olduktan sonra 30 dakika içinde değerlendirilmelidir. pH ölçümü yapılırken; numune homojenize olacak şekilde karıştırılır ve dikkatli bir şekilde pH kağıdının üzerine bir damla numune damlatılır. Semen emildiği bölgede homojen bir renklenme oluncaya kadar beklenir ve oluşan renk kalibrasyon şeridi ile karşılaştırılarak pH belirlenmiş olur (Özdener, 1993; WHO, 2010).

2.7.3. Semen Mikroskopik Değerlendirilmesi

Semen analizinin mikroskopik incelemesi sırasında sperm konsantrasyonu, motilite özellikleri, morfolojik yapı, aglütinasyon ve agregasyon varlığı, yuvarlak hücre sayısı ve bu hücrelerin ayrımı, gerekli durumlarda da canlılık tayini yapılabilmektedir. Mikroskopik değerlendirmenin sağlıklı sonuç verebilmesi, likefiye olmuş taze semenin dilüe edilmeden ve boyanmadan hazırlandığı ıslak preparatların faz-kontrast mikroskopu kullanılarak incelenmesi ile olur (Kayıkçı ve ark., 2002; WHO, 2010).

Islak Preparat Hazırlanması

- Semen numunesi, hava kabarcığı oluşmayacak şekilde iyice karıştırılmalıdır. Bu işlem sırasında sperm üzerine negatif etki oluşturacak kuvvetten

kaçınılmalıdır. Yaklaşık 1,5 mm çaplı plastik pipet aracılığı ile semenin 10 defa aspire edilmesi ile semenin homojenize olması sağlanır.

- İncelenecek numune miktarı, karıştırma işleminden sonra temiz bir lam üzerine alınmalıdır. Semen analizi sırasında alınan her örnek için numune iyice karıştırılmalıdır. Çünkü numune bekledikçe sperm ve sperm dışı hücreler kabın dibine çöker ve bu durum daha sonraki test çalışmalarını etkileyebilir.
- Sperm hücrelerinin lam lamel arasında üç boyutlu hareketine imkan verirken, bu hareketi sırasında odakta kalmalarını da sağlayabilmek için yaklaşık 20 µm'lik derinlikte ıslak preparat hazırlanmalıdır. Çünkü derinliğin 20 µm'den daha az olması sperm hücresinin üç boyutlu hareketini, 20 µm'den fazla olması ise sperm hücresine odaklanmayı zorlaştırır (Le Lannou ve ark., 1992; Kraemer ve ark., 1998). Bunun için incelenecek numune miktarı ve lamel boyutları standardize edilmelidir. Islak preparatın derinliğini standardize etmek için kullanılan formül Tablo 2.3'te olduğu gibidir.

Tablo 2.3. Islak preparatın derinlik hesabı (WHO, 2010).

$$\text{Preparatın derinliği (D } \mu\text{m)} = \frac{\text{Numune Hacmi (V, } \mu\text{l} = \text{mm}^3)}{\text{Numunenin Yayıldığı Alan (A, } \text{mm}^2)}$$

Buna göre; temiz bir lam üzerine 10 µl standart hacimde semen numunesi konulur. Üzerine 22 mm × 22 mm lamel (A= 484 mm²) kapatıldığında yaklaşık 20,7 µm derinlik sağlanmış olur.

- Lamel kapatılırken hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilmelidir. Numune lam lamel arası yayılır yayılmaz, ıslak preparat değerlendirilmelidir.
- Her bir görme alanı incelendiğinde sperm sayısı değişiklik gösteriyorsa, semen numunesi homojen olacak şekilde karıştırılmamıştır. Islak preparat, semen iyice karıştırıldıktan sonra tekrar hazırlanması gerekir. Dikkatli bir şekilde karıştırılıp tekrar edilen semen örneklerinde sperm

hücreleri hala homojen bir şekilde dağılmamışsa; anormal likefaksiyon, hiperviskozite, agregasyon ve aglütinasyon akla gelmelidir (WHO, 2010).

Sperm Hücresinin Agregasyonu

DSÖ'nün 2010 yılında belirlediği kriterlere göre, hareketsiz olan sperm hücrelerinin, hareketli veya hareketsiz olan spermere, sperm dışı hücelere ve mukus iplikleri denilen yapışkan akıntıya bağlanması *agregasyon* olarak değerlendirilmektedir.



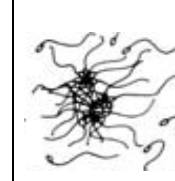
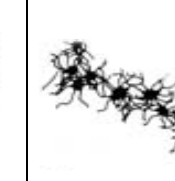
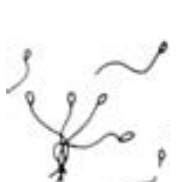

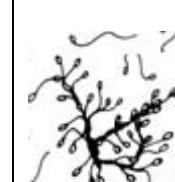

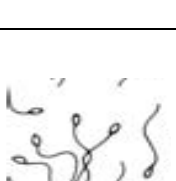
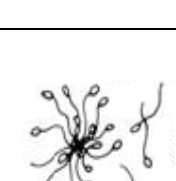
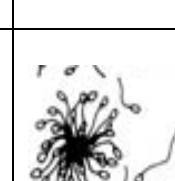
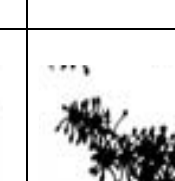
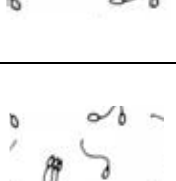
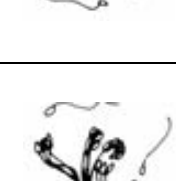
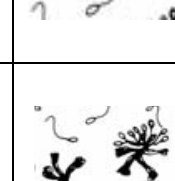
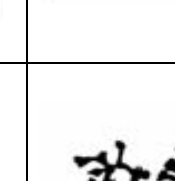
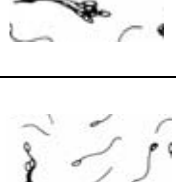
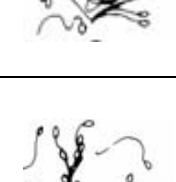

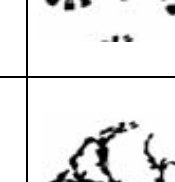
Sperm Hücresinin Aglütinasyonu

Hareketli olan sperm hücrelerinin; birbirlerine baş-başa, kuyruk-kuyruğa ve baş-kuyruğa şeklinde yapışması *aglütinasyon* olarak değerlendirilmektedir. Belirgin bir şekilde sperm kümeleşmesi ve aglütinasyon görülmesi antisperm antikorların varlığını düşündürülebilir (Kayıkçı ve ark., 2002). Antisperm antikor varlığı immun sisteme ait bir bozukluk olduğunun göstergesidir. Sağlıklı bireylerde kan-testis bariyerleri, spermeleri immun sistemin tanınması ve antijen oluşturmaya karşı korumaktadır. Bariyerin herhangi bir sebeple bozulmasıyla, sperm kanla karışır ve antijenik cevap oluşur (Turek, 1999). Sperme bağlanmış antikorlar sperm hareketini ve fertilizasyonu etkiler. Antikor bağlı sperm sayısı yarıdan fazla ise fertilizasyon oranı azalır. Tercih edilen tedavi yöntemi intrauterin inseminasyon (IUI)'dur (Ayvaliotis ve ark., 1985; Ombelet ve ark., 1997).

DSÖ'ü aglütinasyonu birbirine bağlı veya serbest kalan sperm sayısına göre 4 gruba ayırarak derecelendirmiştir. Buna göre;

- **Derece 1, İzole (Grade 1);** Aglütinasyon kümeleri incelendiğinde bağlı olan sperm sayısı < 10 şeklinde olup, çoğu sperm hücresi serbesttir.
- **Derece 2, Orta Derecede (Grade 2);** Aglütinasyon kümeleri incelendiğinde bağlı sperm sayısı 10-50 şeklinde olup, izole grup ile karşılaştırıldığında serbest sperm sayısı daha azdır.

- **Derece 3, Geniş (Grade 3);** Aglütinasyon kümeleri incelendiğinde bağlı sperm sayısı > 50 şeklinde olup, bazı sahalarda serbest sperm görülebilir.
- **Derece 4, Yoğun (Grade 4);** Aglütinasyon kümeleri incelendiğinde spermlerin hepsi aglütine olmuştur ve serbest sperm hücresi görülmez (WHO, 2010).

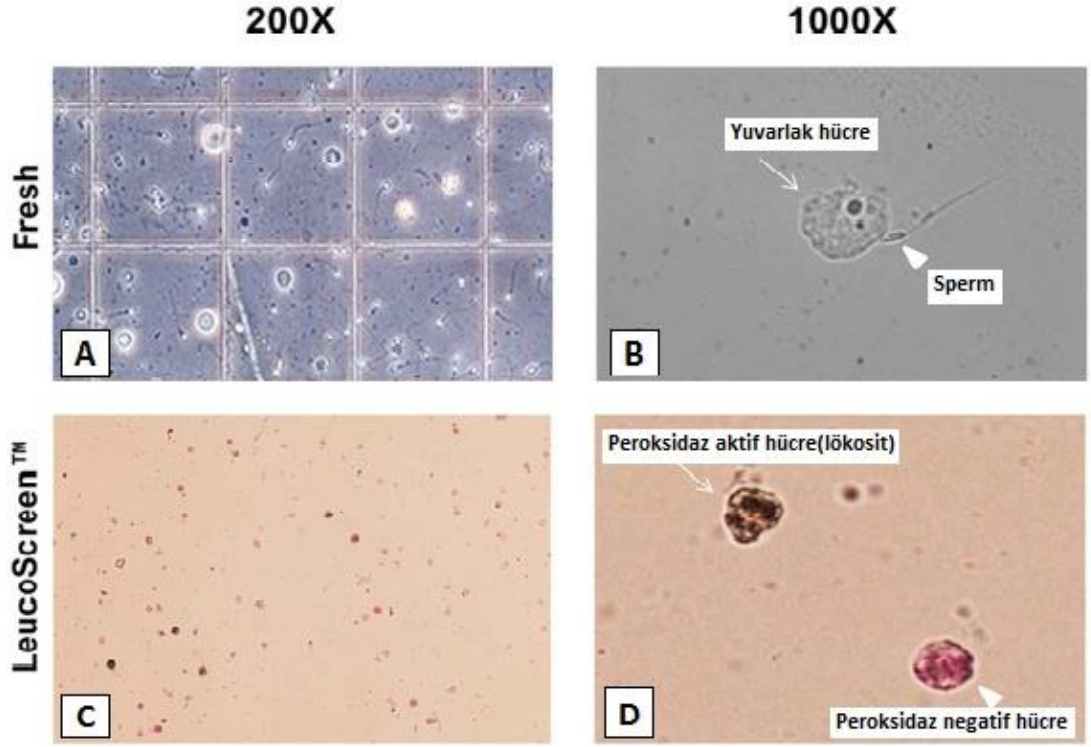
| İlgili Kısım | Aglütinasyon derecesi | | | |
|---|---|---|--|---|
| | İzole | Orta | Geniş | Yoğun |
| Baş-başa |  |  |  |  |
| Kuyruk-kuyruğa |  |  |  |  |
| Kuyruk ucu-kuyruk ucuna |  |  |  |  |
| Karışık; baş başa ve kuyruk kuyruğa |  |  |  |  |
| Yumaklaşmış; baş kuyruk birbirine karışmış |  |  |  |  |

Şekil 2.7. Farklı sperm aglütinasyon derecelerinin şematik diyagramı (WHO Laboratuvar El Kitabı, 2010 yılı basımında yer alan şekle göre uyarlanmıştır).

Yuvarlak Hücre ve Lökositlerin Ayrımı

Semende sperm hücresi haricinde; ürogenital sistem kaynaklı epitel hücreler, immatur germ hücreleri ve lökositler bulunabilmektedir. İmmatur germ hücreleri ve lökositler *yuvarlak hücre* olarak adlandırılmakta ve rutin semen analizinde ayrımı zor olmaktadır. Yuvarlak hücre konsantrasyonu 5 milyon/ml'yi geçtiği durumlarda lökosit ve immatur germ hücrelerini birbirinden ayırmak gerekir. Seminal lökositler ile semen kalitesi arasındaki ilişki literatürde hala tartışmalıdır. DSÖ semende 1 milyon/ml'den fazla lökosit bulunmasını anormal kabul etmiş ve lökosit sayısının artmasını *lökospermi* olarak adlandırmıştır. Bu durum özellikle infertil erkeklerde yaygın görülür ve genel popülasyonda % 10-20'lik bir insidansa sahiptir. Bununla birlikte, seminal lökositlerin daha düşük konsantrasyonları (0-1 milyon/ml) hala çok daha yaygın bir durumdur ve enfeksiyon yokluğunda bile görülür (Rodin ve ark., 2003; WHO, 2010).

Lökospermi durumunda lökositlerin reaktif oksijen türlerini artırarak sperm hücresinin hareket ve fonksiyonunu negatif yönde etkilediği düşünülmektedir. Lökospermi varlığı; genital sistem enfeksiyonu ya da inflamasyon ihtimalini düşündürmeli ve lökositleri immatur germ hücrelerinden ayırmak için ileri testler yapılmalıdır. Bu testler; intraselüler peroksidaz varlığına dayalı testler ve lökosite spesifik olan antijen testleridir. Semende yaygın olarak bulunan lökosit türü nötrofillerdir. Nötrofiller intraselüler peroksidaz içerirler. Ortama benzidin ve hidrojenperoksit ilave edildiğinde kahverengiye boyanırlar (Aktan, 2011). LeucoScreen adındaki ticari kit peroksidaz içeren lökositleri kahverengiye boyayarak pratikte tercih edilmektedir (Şekil 2.8). Bu yöntemle nötrofiller, immatur germ hücrelerden ve peroksidaz içermeyen diğer lökosit türlerinden ayrılırlar. Peroksidaz içeren veya içermeyen bütün lökositlerin immatür germ hücrelerden ayrımı için daha pahalı ve zaman alan immunhistokimyasal yöntemler kullanılabilir. Bu yönteme göre; insan lökositlerinin tümü uygun bir monoklonal antikör ile belirlenen spesifik bir antijen olan CD45 içerir ve kırmızı renge boyanırlar (WHO, 2010).



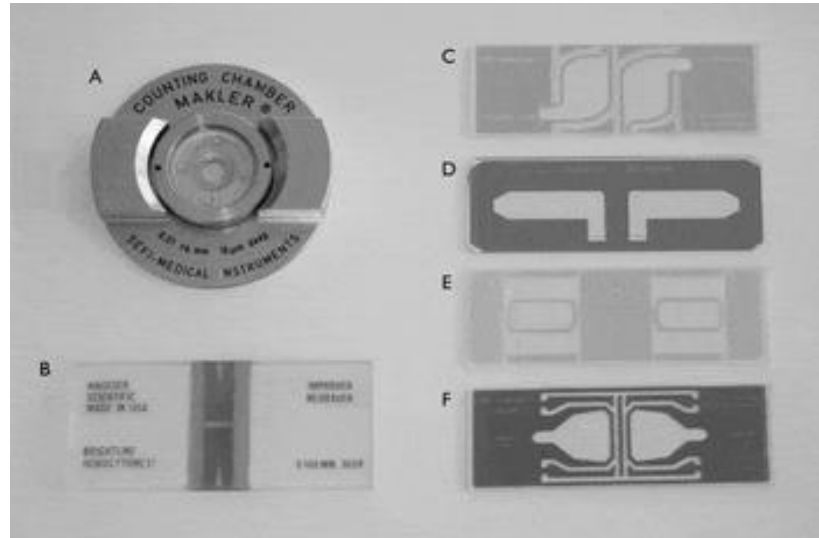
Şekil 2.8. Seminal yuvarlak hücre görünümü (A-B) Faz kontrast mikroskopta incelenen ıslak preparat, (C-D) Işık mikroskobunda incelenen leucoscreen ile boyalı preparat (Shedding Light on the Nature of Seminal Round Cells, <http://www.journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0151640> 17.09.2017).

Sperm Konsantrasyonu

Semendeki total sperm sayısı ve sperm konsantrasyonu spermin yumurtayı dölleme yeteneği ve gebelik oluşuncaya kadar geçen zaman dilimi ile ilişkili olup, gebelik oluşmasının belirleyici etkenlerinden biridir (Bonde ve ark., 1998; Larsen ve ark., 2000; Slama ve ark., 2002). Semende var olan sperm sayısı cinsel perhiz süresine ve testis hacmine bağlı olarak değişebilir. Bir erkeğin ejakülator kanal tıkanıklığı ve uzun bir cinsel perhiz süresi yoksa total sperm sayısı testis hacmi ile bağlantılıdır. Bu durum testislerin sperm hücresi üretme kapasitesini gösterir fakat sperm konsantrasyonu seminal vezikül ve prostat sekresyonlarıyla dilüe olduğu için testis işlevini değerlendirirken spesifik değildir (Eliasson, 1975; Handelsman ve ark., 1984).

Sperm görüntülemek için en iyi yol, 20 x faz kontrast objektif ile donatılmış bir mikroskop kullanarak yapılmaktadır. Çoğu klinik laboratuvar faz kontrast kullanmaz ve 10 x'lik bir objektif kullanarak, prosedürü daha da zorlaştırmaktadır. Mevcut optik mikroskopa, faz optiklerinin eklenmesi semen analizini iyileştirmenin nispeten ucuz bir yoludur. Mikroskop aydınlatmasını en uygun hale getirmek ve cihaz bakımı yapmak, iyi optik kalite ve sperm görüntüleme için gereklidir (Rothmann ve Reese, 2009).

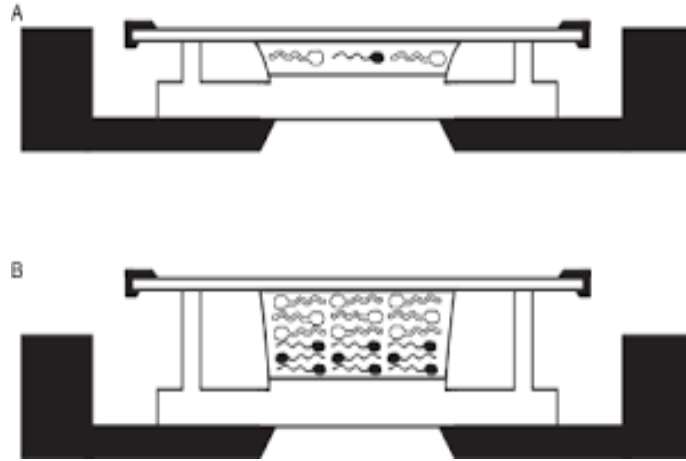
Total sperm sayısı ve sperm konsantrasyonu aynı anlama gelmemektedir. Sperm konsantrasyonu 1 ml semende bulunan sperm sayısını ifade ederken, total sperm sayısı ise tüm semendeki sperm sayısını ifade eder ve basitçe semen hacmi ile sperm konsantrasyonunun çarpımına eşittir. Semen içindeki hücresel elementlerin miktarını belirlemek için Şekil 2.9'da görüldüğü üzere çeşitli sayım odaları kullanılmaktadır.



Şekil 2.9. Sperm sayım odaları (A) Makler kamara, (B) Neubauer hemositometre, (C) Standart sayım Leja slayt, (D) Cell Vision, (E) Cell-Vu, (F) Mikrocell (Rothmann ve Reese, 2009).

Yıllarca hemositometre sperm sayımında kullanılabilen tek sperm sayım odasıydı. Bu yöntem, semen için seyreltme ve yaygın olarak oluşan pipetleme hatalarını tespit etmek için seyreltilmiş numunenin tekrar tekrar test edilmesini

gerektirmektedir. Dolayısı ile zaman alan bir metottur (Niederberger, 2004). Hemositometre yaklaşık 100 μm 'lik oda derinliğine sahiptir. Ancak bu derinlik hareketli ve hareketsiz hücrelerin karışımı için tamamen uygun değildir. Şekil 2.10'da görüldüğü gibi zaman geçtikçe hareket etmeyen hücreler sayım odasının tabanına otururlar. Hareketli hücreler yüzmeye devam eder ve odanın derinliklerine doğru iner. Böylece spermilerin tümü aynı odak düzleminde olmaz ve sonuç olarak hem hareketli hücre oranı hem de sperm konsantrasyonunun doğru sayımı imkansız hale gelir. Bu nedenle tüm spermilerin hareketsiz olmasını sağlayan sperm öldürücü solüsyonlar kullanılarak, sperm konsantrasyonu belirlenir. Hemositometre odası ve lamelleri, tekrar kullanılmadan önce iyice temizlenmeli ve kurutulmalıdır. Üzerinde sperm öldürücü kalıntı bırakılmamalıdır. Yeterince temizlenemeyen durumlarda gelecekteki örnekleri kirletebilir. Bunun yanında tekrarlanan temizlikler sayım odası yüzeyini yavaş yavaş aşındırarak, odanın derinliğini değiştirebilir. Bunun sonucunda da hatalı sperm sayımı kaçınılmazdır. Düzenli olarak kullanılan bir hemositometre her 1-2 yılda bir veya çizildiğinde değiştirilmelidir. Ancak birçok laboratuvar hemositometreyi bu sürenin çok ötesinde kullanmayı sürdürmektedir (Rothmann ve Reese, 2009).



Şekil 2.10. Sayım odalarının derinlik karşılaştırılması (A) 10-20 μm derinlikte sperm sayım odası ve tek görüş düzlemindeki sperm, (B) 100 μm derinlikte hemositometre ve çoklu görüş düzleminde sperm (Rothmann ve Reese, 2009).

Sperm konsantrasyonu belirlemek için günümüzde en çok kullanılan kamara 1978 yılında Prof. Dr. Ammon Makler tarafından tasarlanmış Makler Sperm Sayım

Kamarasıdır. Bu kamara hemositometreye göre iki önemli avantaja sahiptir. Semen numunesinin seyreltilmesine gerek duymaz ve bu yüzden seyreltme hatalarını gidermek için yapılan tekrarlama işlemlerini gerektirmez. 10 µm derinliğe sahip olan bu kamara sperm konsantrasyonunun belirlenmesinin yanında, sperm hücrelerinin tek bir düzlemde serbest hareketine de imkan vererek, hareket yüzdesini de belirlememizi sağlar (Ginsburg ve Armont, 1990; Johnson ve ark., 1996; Işık ve Vicdan, 1999; Delilbaşı, 2007). Ayrıca kapiller hareketle dolan alternatif sayım odaları da vardır. Ancak bu sayım odaları spermi sayım alanı boyunca eşit aralıklarla yerleştiremediğinden hatalı sayma eğilimi gösterebilir.

Sayım odalarının karşılaştırılmaları literatürde bol miktarda bulunur. Ancak farklı analitik teknikler, farklı kalite kontrolü ve metodoloji kullanımı çelişkili önerilere yol açmaktadır (Tomlinson ve ark., 1993; Johnson ve ark., 1996). Semen analizi sırasında laboratuvarların sperm konsantrasyonunu belirlemek için aynı hastada farklı sayım metotları kullanmaları tutarsız sonuçlar ortaya koymaktadır. Bu da hastaya doğru tanı ve uygun tedavi protokolü uygulanmasında yanılgıya uğratabilir (Işık ve Vicdan, 1999; Delilbaşı ve ark., 2000; Delilbaşı ve ark., 2001). DSÖ'nün belirlediği standardizasyona göre hazırlanan ve değerlendirilen semen bu açıdan önemlidir.

DSÖ'nün 1999'da yayımladığı kriterlerde sperm konsantrasyonu için referans alt sınır değeri 20 milyon/ml iken, 2010 kriterlerinde çalışılan semen sonuçları % 95 güven aralığı 12-16 milyon olduğu için 15 milyon/ml olarak bildirilmiştir. Toplam sperm sayısı ise daha az dramatik bir şekilde azalmıştır. Total sperm sayısının 1999 kriterlerine göre referans alt sınır değeri 40 milyon iken, 2010 kriterlerinde % 95 güven aralığı 33-46 milyon olduğu için 39 milyon olarak değerlendirilmiştir. Total sperm sayısı, toplam hacim ve sperm konsantrasyonunun ürünü olduğu için semen hacminin ölçülmesindeki değişkenlik toplam sperm sayısının hesaplanmasını da etkileyebilmektedir. DSÖ'nün 2010 kriterlerini belirlerken çalışmaya aldığı 1953 fertil erkek incelendiğinde; 888 tanesinde Neubauer sayım odası, 165 tanesinde Makler, Burker-Türk veya Thoma sayım odası, geriye kalan 900 numunede ise Neubauer, Burker-Türk, Thoma veya Malassez sayım odaları ile konsantrasyon belirlenmiştir. DSÖ 2010 kriterlerinde sayım için 100 µm derinliğinde bir haznenin tercih edilmesini ve bu derinliğe sahip olan geliştirilmiş Neubauer hemositometresini

önermiştir. Ayrıca kapiller hareketle dolan sayım odalarının hatalı sonuç vermesini önlemek ve bu sayma kamaralarının androloji laboratuvarına dahil edilmeden önce doğruluğunu sağlamak için geliştirilmiş Neubauer hemositometresi ile karşılaştırılması gerektiğini vurgulamıştır. Sayım odaları arasındaki farklılıklar olduğu ve tutarsızlıkların kökeninin seyreltme işlemi ve hacimdeki değişkenlikten kaynaklandığı tespit edilmiştir (Ginsburg ve Armant, 1990; Imade ve ark., 1993). Diğer hatalar arasında lamel yerleştirilmesinin gecikmesi (semenin buharlaşmasına izin verilmesinden dolayı), tamamen olgunlaşmamış, sperm olmayan hücrelerinde sayılması ve yetersiz alanda sayılan spermeler değişken sonuçlar ortaya konulabilir (Shiran ve ark., 1995).

Tüm sayım odalarının semen özellikleri tarafından maskelenmiş olan güçlü ve zayıf yanları vardır. Laboratuvarlar hangi özelliklerin en önemli olduğunu belirleyerek buna göre daha güvenilir kamara seçmelidir (Rothmann ve Reese, 2009). Örneğin; Makler kamaranın 40 milyon/ml'den daha düşük konsantrasyonlarda geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre daha az güvenilir olduğu gösterilmiştir. Bu durum laboratuvarların standart kamara seçimlerinde düşünmesi gereken bir ayrıntıdır (Sukcharoen ve ark., 1994).

Sperm Motilitesi

Sağlıklı bir sperm hücresinin servikal mukusu aşması ve tuba uterinada bulunan yumurtayı dölleyebilmesi için aktif olarak hareket etmesi gerekmektedir. Sperm motilitesi; total sperm konsantrasyonunda hareket eden spermelerin yüzdesi olarak ifade edilmektedir. Semen motilitesi semen likefiye olduktan tercihen 30 dakika içinde değerlendirilmelidir. Bekleme ile pH ve ısı değişebileceğinden dolayı ve bu değişikliklerin de motiliteyi etkileyebileceği düşünüldüğü için bu süre bir saati geçmemelidir. Değerlendirme her laboratuvar için standardize edilmiş oda sıcaklığı veya 37°C'de olmalıdır. Her örnek için 20 µm'lik derinlikte ıslak preparat hazırlanmalı, faz kontrast mikroskop altında x 200-400 büyütmelemlerde inceleme yapılmalı ve en az beş mikroskopik alan taranarak toplamda en az 200 sperm hücresi sayılmalıdır. Sperm hücresinin a tipi (hızlı doğrusal ilerleyici hareket), b tipi (yavaş

doğrusal ya da doğrusal olmayan ilerleyici hareket), c tipi (yerinde hareket) ve d tipi (hareketsiz) olmak üzere dört tip hareketi vardır.

Motilite tayininin subjektif olarak yapılması kişiler ve laboratuvarlar arasında farklı sonuçlara sebep olmaktadır. Bu nedenle DSÖ sperm hareketini değerlendirmek için kriterler belirlemiştir. Mevcut kriterlerinde sperm motilitesini değerlendirirken ileri hareketliliğin belirlenmesinde hızı referans olarak almamıştır. Çünkü ilerleyici hareketin hızlı veya yavaş olarak doğru bir şekilde değerlendirilmesi oldukça zordur (Cooper ve Yeung, 2006; WHO, 2010). Buna göre üç grup belirlenmiştir.

- İleri hareket (Progresif Motilite, PR): Hıza bakmaksızın, doğrusal veya geniş bir daire içerisinde hareket eden sperm olarak tanımlanmaktadır.
- Yerinde hareket (Nonprogresif Motilite, NP): İlerlemeyle sonuçlanmayan, daha küçük dairelerde yüzme, başın yerinden zorlukla oynatıldığı ya da oynatılmadığı kuyruk hareketi ile tanımlanmaktadır.
- Hareketsiz (İmmotile, IM): Açıkça belirgin bir hareket olmayan spermdir (WHO, 2010).

DSÖ'nün 1999 yılında yayımladığı kriterlere göre, toplam hareketlilik (hareketli olan sperm yüzdesi) için alt referans sınır değeri % 50 iken, 2010 kriterlerinde % 95 güven aralığı 38-42 olması ile % 40'a düşmüştür. 2010 kriterlerine göre toplam hareketlilik yüzdesi düşerken, ileri hareket yüzdesi artış göstermiştir. 1999 kriterlerine göre ileri hareket yüzdesi için alt referans sınır değeri % 25 iken, 2010 kriterlerinde % 95 güven aralığı 31-34 olması sebebi ile % 32 olarak belirlenmiştir. DSÖ ayrıca semenin inkübe edilirken motilitenin olumsuz etkilenmemesi için sıcaklık çalışmasında yapmıştır. 2010 kriterlerini belirleyen 1953 semen numunesinden 206 tanesini oda sıcaklığında, geriye kalanları ise 37°C'de analiz etmişler ve bu sonuçlar karşılaştırıldığında motilite değerlerinde herhangi bir tutarsızlık görmemişlerdir. Ancak oda sıcaklığında analiz edilen az sayıda numune olması bu karşılaştırmayı sınırlamıştır (Birks ve ark., 1994; Chiles ve Schlegel, 2015).

Sperm Vitalitesi

Hareketsiz ama canlı olan spermiler ile ölü spermilerin ayrımını sağlayan bu testte canlılık sağlam bir hücre membranı varlığı ile belirlenir. Bu ayrımı yapmak klinik açıdan çok değerlidir. Çünkü çok az sperm hareketi olan veya hiç olmayan hastalarda ICSI tedavisi uygulayabilmek için canlı fakat hareketsiz spermi belirlemek gerekir (Casper ve ark., 1996). Ayrıca DSÖ'nün 2010 kriterlerine göre ileri hareketin ≤ 40 olduğu durumlarda canlılık testinin yapılmasının gerekli olduğu belirtilmiştir.

DSÖ canlılık değerlendirilmesinde normal membran bütünlüğü olan spermilerin alt referans sınır değerini 1999 kriterlerinde % 75 olarak bildirmişken, 2010 kriterlerinde çalışmaya katılan örneklerin % 95 güven aralığı 55-63 olduğu için % 58'e düşürmüştür. 2010 kriterlerinde canlılık belirlemek için 1106 semen örneğinde eosin-nigrosin yöntemi kullanılmıştır. Canlılık belirlemede bu yöntemden başka Eosin-Y ve hipoosmotik şişme (HOS) yöntemleride vardır (Chiles ve Schlegel, 2015).

Eosin-Y; pratik bir yol olmasına rağmen, lam lamel arası taze hazırlanan örnekler olduğu için uzun süre saklanamaz. Ölü olan sperm hücrelerin membranları hasarlı olduğu için hücre içine boya girişi olur ve ölü hücreler pembe renkte boyanırlarken, canlı hücreler boyayı almayarak ayırt edilir (WHO, 2010).

Eosin-Nigrosin; Eosin Y'den farklı olarak arka planda kontrastı artırarak sperm başlarının daha kolay ayırt edilmesini sağlamak için nigrosin kullanılmaktadır. Hazırlanan preparatların uzun yıllar saklanabilmesi avantaj sağlamaktadır. Eosin-Y boyamada olduğu gibi ölü sperm hücreleri pembe boyanırken, canlı hücrelerin boyanmaması beklenir (WHO, 2010).

Hipoosmotik şişme testi (HOS); ICSI yönteminde canlı sperm seçerken, sperm boyanmasından kaçınılarak bu test tercih edilir. Sağlam membranı olan sperm hücreleri canlıdır ve hipoosmotik bir ortama konduğunda şişmesi ve sıvı membran boyunca taşındıkça kıvrılması beklenir (WHO, 2010).

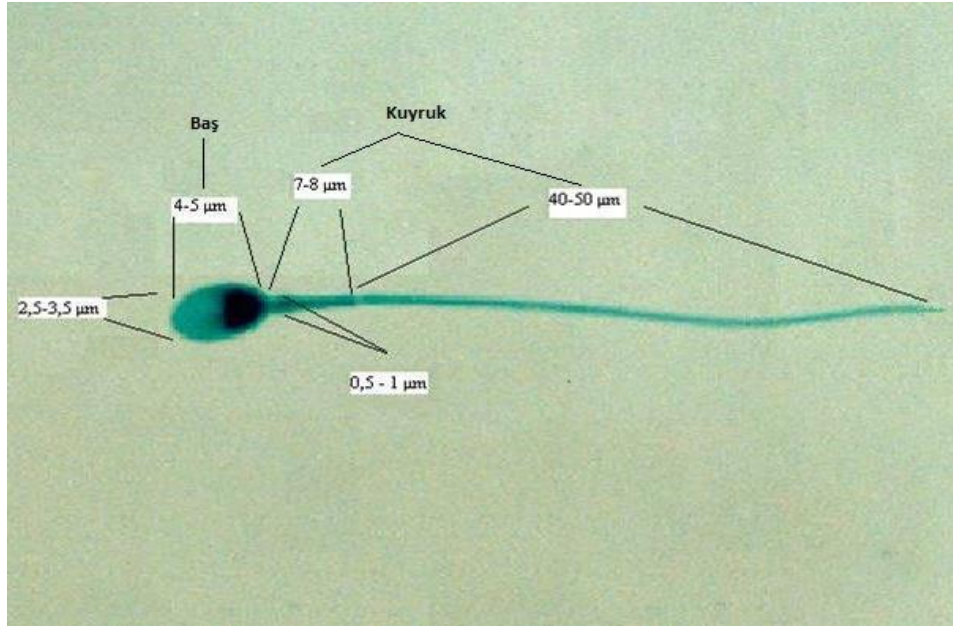
Sperm Morfolojisi

Semen analizinin en önemli basamaklarından olan morfolojik değerlendirme, sperm yapısal özelliklerini ortaya koymaktadır. Normal ya da anormal yapıya sahip olan sperm hücrelerinin yapısal özelliklerinin değerlendirilmesi; ışık mikroskobu, elektron mikroskobu veya çeşitli boyama teknikleri kullanılarak yapılmaktadır. Bu boyalar arasında; Papanicolaou, Hematoksilen-Eosin, Shorr, Giemza boyaları yer almaktadır. DSÖ 2010 yılında güncellenmiş olduğu bilgilere göre Papanicolaou boyasının sperm morfolojisi belirlemede en ideal boya olduğunu ancak bu yöntemle sperm değerlendirilmesinin uzun zaman aldığını belirtmiştir. Bundan dolayı günümüzde sperm morfolojisini değerlendirmek için hem kısa sürede sonuç veren hem de sperm hücrelerinin yapısal özelliklerini ayrıntılı bir şekilde gösteren ticari boyama kitleri tercih edilmeye başlanmıştır. Bu kitler arasında Spermac ve Diff-Quik en çok kullanılan boyalardır (Aydos 2007; Ford 2010). Sperm incelenirken kullanılan fiksasyon ve boya çeşidinin türüne ve muamele edildikleri süreye bağlı olarak sperm hücrelerinde hafif küçülmeler olabilmektedir. Bunun sonucunda sperm hücrelerinin anormal veya normal olduğunu gösteren kriterleri ortaya koymak zorlaşmaktadır. Bu nedenle bu kriterleri standardize etmek gerekmektedir. Morfolojik olarak değerlendirmede belirli bir standardizasyonu sağlamak için en yaygın kullanılan sınıflandırma sistemleri; DSÖ'nün kriterleri ve Kruger (Tygerberg) strict kriterleridir. Strict kriterler ilk kez 1986 yılında Kruger ve arkadaşları tarafından tanımlanmış olup, 1990 yılında Menkeveld ve arkadaşları ile tekrar güncellenmiştir. DSÖ 1999 yılından beri bu kriterleri kullanmaktadır (Kruger ve ark., 1988; WHO, 1999).

DSÖ 1999 yılında yayımladığı normal sperm morfolojisi için alt referans sınır değerini % 14 belirlemişken, 2010 kriterlerinde % 95 güven aralığı % 3-4 olduğu için % 4 olarak değiştirmiştir. Bu referans değer merkezi bir laboratuarda 1493, ikinci bir laboratuarda 206 ve üçüncü bir laboratuarda 89 hasta numunesi çalışılarak toplamda 1788 fertil erkekte elde edilen sonuçlarla belirlenmiştir. Tygerberg strict kriterlerine göre normal kabul edilen sperm morfolojisinin klinik ile uyumlu olduğu IVF ve IUI yöntemlerindeki başarıyla desteklenmiştir. Bu kriterlere göre normal morfoloji % 4'ten küçük olduğu durumlarda yumurta başına düşen fertilizasyon

oranı % 7,6 iken, % 4'ün üzerinde olduğu durumlarda % 63,9'dur. Dolayısıyla sperm morfolojisi değerlendirilirken kesin kriterler tercih edilmektedir (Kruger ve ark., 1988; Chilas ve Schlegel, 2015).

Normal spermin tanımlanması; normal sperm hücre şekli, cinsel ilişki sonrası servikal mukustan veya zona pellucida yüzeyinden alınan spermelerin analizi ile belirlenmiştir (Mortimer ve ark., 1982). Buna göre; yaklaşık 60 μm uzunluğa sahip olan normal bir sperm hücresi baş, boyun, orta parça, esas parça ve son parçadan oluşmaktadır. Ancak ışık mikroskobu ile son parçayı görmek zordur. Boyun, orta parça, esas parça ve son parça spermin kuyruğunu oluşturmaktadır. Baş ve kuyruk yapısı kriterlere uygun olan sperm normal kabul edilir (WHO, 2010).



Şekil 2.11. Spermac ile boyanmış normal morfolojili sperm görüntüsü (Memorial Şişli Tüp Bebek Merkezi, <http://www.tupbebek-genetik.com/laboratuar-yontemleri/androloji-laboratuvarı/> 18.09.2017).

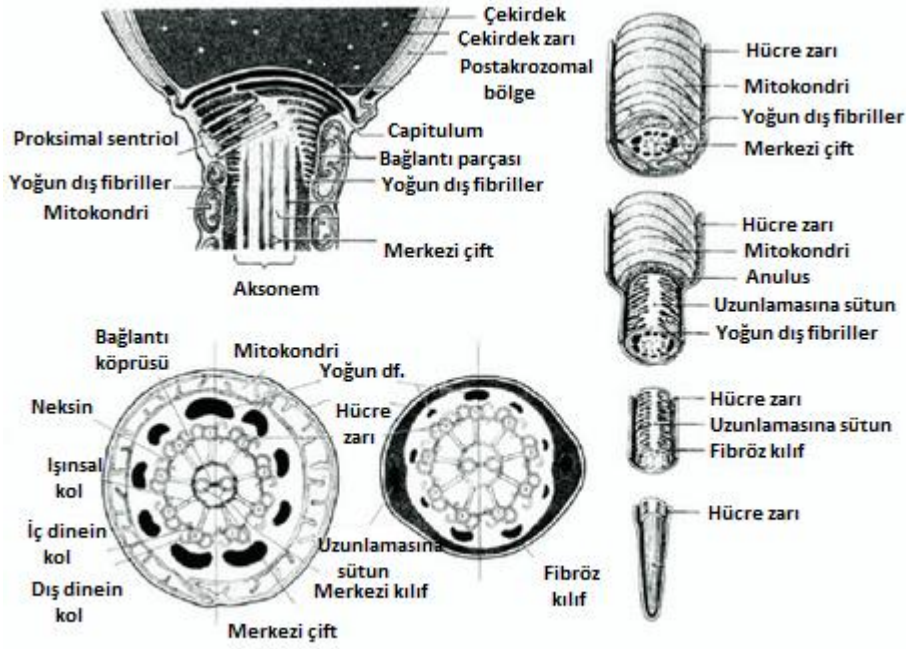
Sperm Başı

Normal sperm başı oval yapıda olup, düzgün sınırlara sahiptir. Sperm hücresinin yapısal özelliklerinin mikroskop altında sağlıklı bir şekilde

incelenebilmesi için çeşitli fiksasyon ve boyama teknikleri uygulanmaktadır. Şekilleri önemli ölçüde farklı olmasa da boyalı sperm hücrelerinin başları, işlem görmemiş semendeki canlı sperm hücrelerinin başlarından biraz daha küçüktür. Bu küçülme miktarıda hesaba katılarak başın boyu yaklaşık 4-5 µm uzunluğunda ve genişliği ise 2,5-3,5 µm olmaktadır (Güenalp, 2008). Başın büyük bölümünü içerisinde paternal DNA bulunduran yoğun ve özelleşmiş çekirdek oluşturmaktadır. DNA ve nükleer proteinlerin oluşturduğu kromatin yapısı, somatik hücrelerin kromatin yapısı ile karşılaştırıldığında daha sıkı yapıdadır. Sperm kromatin yapısının % 85'inin protaminler, geriye kalan kısmın ise histon proteinleri tarafından paketlenmiş olduğu düşünülmektedir. DNA iplikleri sisteinden zengin protamin moleküllerini sıkıca sararak çok sıkı paketlenmiş yapıyı oluşturur. Sperm kromatininin bu özelliği sayesinde, sperm hücresinin kadın ve erkek genital sistemde oluşacak ve sperm üzerine negatif etkisi olan oksidasyon ve sıcaklık artışı gibi dış etkilere korunmuş olduğu düşünülmektedir (Gatewood ve ark., 1987; Kosower ve ark., 1992; Gineitis ve ark., 2000). Sperm başında tüm bu yapıları saran, başın % 40-70'ini kaplayan ve akrozom denilen oval bir yapı bulunur (Menkveld ve ark., 2001). Akrozom, fertilizasyon sırasında akrozomal membran ve yumurta plazma membranının birleşmesi ile başlayan, akrozom reaksiyonu ile serbestleşen hyaluronidaz ve proakrozin gibi enzimler bulundurur (Ford, 2010). Akrozomal bölgede vakuol sayısı ≤ 2 olmalı ve başın % 20'sinden fazlasını kaplamamalıdır. Post-akrozomal bölgede ise vakuol bulunmamalıdır (WHO, 2010).

Sperm Kuyruğu

Sperm kuyruğunun hareketinden sorumlu olan yapı aksonemdir. En içte bulunan bu yapı kuyruk boyunca uzanır. Merkezde yerleşmiş bir çift tübül ve onun etrafında bulunan 9 çift mikrotübül yapısından oluşmaktadır. Mikrotübüller dinein adı verilen proteinlerden oluşmuştur. Periferal çiftlere eşlik eden, 9 tane, ince ve silindirik yapıda, kuyruğa elastik ve dayanıklılık sağlayan yoğun dış fiber yapıları vardır. Bu dış fiberler kuyruğun % 60'ını oluşturur (Sargin ve Arpalı, 2011).



Şekil 2.12. Spermin kuyruk yapısı (Amann ve Graham, 1993'ten uyarlanmıştır).

Boyun Kısmı

Spermin başını kuyruğa bağlayan bölümdür. Yapısında birkaç mitokondri ve bağlantı parçası bulunmaktadır.

Orta Parça

Normal spermin orta parçası ince yapıda, uzunluğu yaklaşık olarak sperm başı kadar, genişliği ise $1\mu\text{m}$ olup, düzgün sınırlara sahiptir. Ana eksenini sperm başının ana eksenine ile aynı hizadadır. Sitoplazmik artıklar sperm baş alanının üçte birinden daha az alanı işgal etmelidir (Mortimer ve Menkveld, 2001). Sperm DNA'sının ana parçası çekirdek içindedir ancak küçük bir bölümü orta parça içerisinde yer alarak mitokondriyal kökenlidir. Bu DNA yapısı küçük ve dairesel olup, proteinlerle bağlı değildir. Mitokondriler aksonemin dışına yerleşmiştir. Sperm hücresinin hareketliliği orta parça içerisinde bulunan mitokondriyal hacme ve burada

yer alan DNA'da oluşabilecek hasarlarla ilişkilidir (Anderson ve ark., 1981; Kao ve ark., 1998).

Esas Parça

Yaklaşık 0,4-0,5 µm çapında ve orta parçadan ince, uzunluğu yaklaşık 45 µm olup kuyruğun en uzun parçasıdır. Kuyruk kıvrılabilir ancak keskin bir açı ile kırılmamış olmalıdır. Orta parça ve esas parça birbirinden anulus adı verilen bir parçayla ayrılmıştır. Esas parça fibröz bir kılıfla kuşatılmıştır. Fibröz kılıf, kuyruk hareketinin planı ve şeklini belirler (WHO, 2010; Sargın ve Arpalı, 2011).

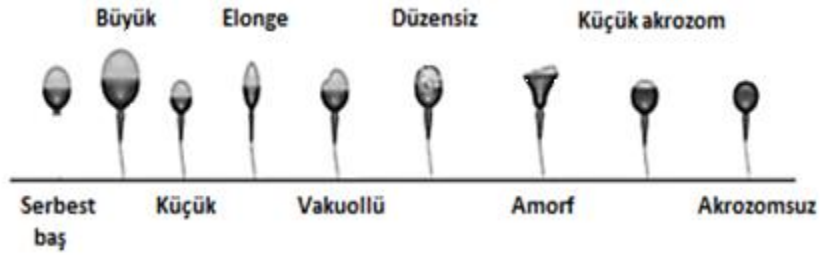
Son Parça

Kuyruğun en distal kısmını oluşturur ve ışık mikroskobu ile ayırt edilemez. Fibröz kılıf ve yoğun dış fibril yapısı kaybolmuştur (Sargın ve Arpalı, 2011).

Anormal spermin tanımlanması; sperm hücresi yukarıda belirlenen özellikler haricinde yapısal farklılıklar gösterdiğinde anormal sperm hücresi olarak tanımlanmaktadır. Spermin yapısında meydana gelen defektlere bağlı olarak çeşitli malformasyon tipleri belirtilmiştir.

Baş Defektleri

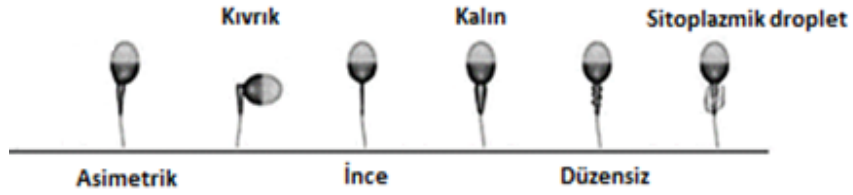
Büyük ya da küçük, yassılaştırmış, armut şeklini almış, yuvarlak, şekilsiz, vakuol sayısının > 2 olması veya baş alanının % 20'den fazlasını kaplaması, baş alanının % 40'ından az yer kaplayan küçük akrozom ya da > %70'inden fazla yer kaplayan büyük akrozom, çift baş veya hepsinin kombinasyonu şeklinde bulunabilir.



Şekil 2.13. Sperm baş defektleri (Abnormal sperm, <http://fertilitysolutions.com.au/so-your-sperm-morphology-is-low-should-you-be-worried/> 18.09.2017).

Boyun ve Orta Parça Defektleri

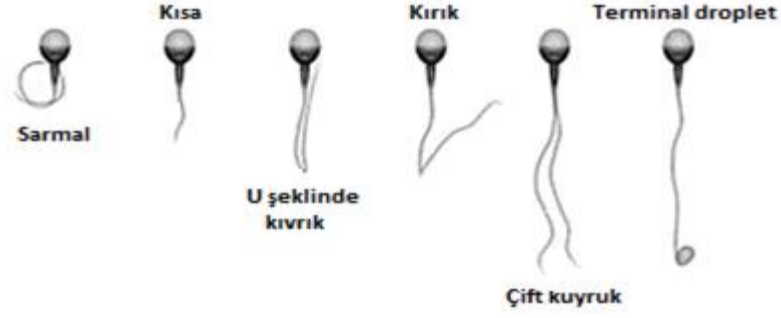
Bükük boyun, orta parçanın başa asimetric bağlanarak ana ekseninin başın ana eksenine ile aynı hizada olmayışı, kalın veya anormal derecede ince olması, düzensiz yapıda olması veya hepsinin kombinasyonu şeklinde bulunabilir.



Şekil 2.14. Sperm boyun ve orta parça defektleri (Abnormal sperm, <http://fertilitysolutions.com.au/so-your-sperm-morphology-is-low-should-you-be-worried/> 18.09.2017).

Kuyruk Defektleri

Birden çok sayıda, kısa, kırık, keskin açılı ve düzensiz yapıda olması veya hepsinin kombinasyonu şeklinde bulunabilir.



Şekil 2.15. Sperm kuyruk defektleri (Abnormal sperm, <http://fertilitysolutions.com.au/so-your-sperm-morphology-is-low-should-you-be-worried/> 18.09.2017).

Fazla Sitoplazma Kalıntısı

Spermatogenik süreçte meydana gelen defektlerle oluşmuş bu malformasyon genelde spermin orta parçasında yer alır ve başın üçte birinden daha büyük miktarda düzensiz sitoplazma içermesi ile ayırt edilir.

Özel Defektler

Morfolojik incelemeler sırasında yukarıda tanımlanmış defektler haricinde Pinhead yani iğne başlı sperm ile kopuk veya serbest sperm başlarında görülebilir. Sperm konsantrasyonu, motilite ve morfoloji belirlerken baş ve kuyruğu bütün olan spermler değerlendirilmelidir. Serbest kuyruk ve serbest başlar sperm olarak değerlendirilemeyeceği gibi anomali olarakta değerlendirilmemelidir. Gerekli durumlarda sayıları ayrıca belirtilmelidir.

Sperm morfoloji değerlendirilirken, bir spermde bir veya birden fazla anomali aynı anda görülebilir. Bir sperm başına düşen anomali sayısı *Teratozoospermi İndeksi (TZI)* olarak tanımlanmaktadır. Buna göre öncelikle spermler normal ve anormal olarak belirlenir. Bütün anormal spermler baş, boyun/orta parça, kuyruk kusurları ve sitoplazmik droplet olmak üzere dört kategoriye ayrılır (WHO, 1992). Bu kusurlardan bir tanesi olabileceği gibi iki, üç veya dört anomali eş zamanlı

olarakta görülebilir. Sayılan normal sperm sayısı, total sayılan spermden çıkarılarak toplam defektli sperm sayısı bulunur. Bu değerde baş, boyun/orta parça, kuyruk ve sitoplazmik droplet anomalilerinin toplamına bölünerek TZI değeri belirlenir. TZI değerinin normal referansı, DSO tarafından 1,60 olarak, Menkveld ve ark., tarafından ise 2,09 olarak bildirilmiştir. DSO'ne göre 1,60 ve altında ise, Menkveld'e göre 2,09 ve altında ise normal kabul edilir (WHO, 1999; Menkveld ve ark., 2001).

2.8. Semen ve Sperme Ait Özel Testler

Bazı durumlarda rutin semen analizi erkek fertilizasyon potansiyelini belirlemede yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle doğru tanı ve tedavi için daha gelişmiş testlere ihtiyaç duyulabilmektedir.

2.8.1. Anti-Sperm Antikor (ASA) Testi

Ejakulatuar kanalda meydana gelen tıkanma, geçirilmiş genital enfeksiyonlar, testiküler travma, vazovazostomi veya vazoepididimostomi sonrası anti-sperm antikor gelişebilir. Var olan risk faktörleri etkilerini kan-testis bariyerini bozarak gösterir. Sperm sayısının normal referans aralıklarında olduğu fakat sperm hareketinin az olduğu durumlarda, anormal viskozite, anormal likefaksiyon ve sperm aglütinasyonunun olduğu durumlarda ASA değerlendirilmesi yapılmalıdır (Turek, 1999; Günalp, 2008).

ASA değerlendirilmesi sperm yüzeyinden direkt testle yapılabildiği gibi serum ya da seminal plazma da indirekt testlerle de yapılabilir. Ancak sperm yüzeyinde yapılan ASA değerlendirilmesi daha kıymetli veriler ortaya koymaktadır. Günümüzde en çok tercih edilen iki yöntem vardır: Bunlar *mikst antiglobulin reaksiyon testi (MAR testi)* ve *immünobead test (IBT)*'dir. IBT yöntemi ile sperm üzerindeki ve serumdaki anti-sperm antikorlar saptanabilmektedir. Bu yöntemde hareket spermler incelenmekte ve % 20'sinden fazlasında anti-sperm antikor var ise sonuç pozitif olarak değerlendirilmektedir. MAR yöntemi ise IBT yöntemi ile karşılaştırıldığında daha pratiktir. Direkt olarak sperm yüzeyi incelenir ve sperme

yapışık partiküller % 10'dan fazla ise sonuç pozitif olarak değerlendirmektedir (Aktaş ve ark., 2007). Anti-sperm antikorları pozitif çıkan erkekler incelendiğinde antikor bağlanmış sperm sayısı yarıdan fazla olduğu durumlarda gebelik oranlarının düştüğü görülmüştür (Ayvaliotis ve ark., 1985). ASA pozitif tabloda en tercih edilen tedavi IUI' dır (Ombelet ve ark., 1997).

2.8.2. Sperm-Servikal Etkileşim Testleri

Beklenen yumurtlamadan hemen önce girilen cinsel ilişki sonrası servikal mukusun mikroskopik olarak incelenerek, hareketli sperm hücresi aranması prensibine dayanmaktadır. Test sonuçları subjektif olup, zamanlama ve değerlendirmeye yönelik varyasyonlar olabileceğinden dolayı tartışma konusudur. Ancak öykü ve fizik muayene sırasında gözden kaçırılan servikal faktörlerin belirlenmesinde değerlidir (Günel, 2008).

2.8.3. Sperm Penetrasyon Testi (SPA)

Yumurtayı çevreleyen zona pellucida, sadece aynı türe ait bir spermin yumurta içine girmesine imkan vermektedir. Zona pellucida enzimlerle dikkat edilerek parçalandığında farklı türe ait sperm hücrelerinin de yumurta içine girmesine izin vermektedir. Sperm penetrasyon testinde; kobaylardan alınan oositlerin zona pellucida'sı çıkarılır ve yıkanmış insan spermi ile inkübe edilerek birleşmesi sağlanır. Sonuç olarak spermin kapasitasyonu, akrozom reaksiyonu, oolemma füzyonu ve yumurta sitoplazması içinde meydana gelen reaksiyonlar incelenir (Yanagimachi, 1984; Smith ve ark., 1987; WHO, 1999). Test sonuçlarının zaman içinde değişiklik göstermesi, test işlemlerini standardize etmenin zorluğu ve sonuçların çoğunlukla laboratuvar tecrübesine bağlı olması önemli veriler sunan bu testi kullanışsız hale getirmektedir (Rogers ve ark., 1983; Aitken, 1985; Aitken ve ark., 1993).

2.8.4. Bilgisayar Yardımlı Sperm Değerlendirme Sistemleri

Bilgisayar yardımlı sperm analizi (CASA) objektif olarak sperm sayısı ve hareketini değerlendirmektedir. Dijital video ve resimlerin incelendiği kayıt ortamları oluşturmaktadır (Davis ve ark., 1992; Davis ve Katz, 1992).

2.8.5. Sperm Kromatin Yapısının Değerlendirilmesi

İnfertilite problemi yaşayan çoğu erkekte DNA hasarı artışı vardır (Irvine ve ark., 2000; Duran ve ark., 2002). Bu sebeple sperm kromatin bütünlüğünün değerlendirilmesi önem kazanmaktadır. Sperm kromatin anomalisinin değerlendirilmesinde çeşitli metotlar kullanılmaktadır. Bunlar arasında Akridin oranj, Kromomisin-A3 (CMA3), toluidin mavisi, asidik anilin mavisi gibi boya yöntemleri kullanılarak anormal DNA yapıları belirlenebildiği gibi ticari bir kit olan halosperm testi ile de sperm DNA bütünlüğü gösterilebilmektedir. Halosperm testine göre; sperm hücreleri agoroz matriks jele yerleştirilir ve denatüre olması için asit solüsyon ilave edilir. Denatürasyon sonunda çekirdek proteinleri açığa çıkararak, merkezi bir çekirdek etrafında bir halo oluşur. Normal DNA'ya sahip olan spermelerde oluşan halo yapısı genişken, hasarlı DNA içeren spermelerde ise ya çok küçüktür ya da hiç oluşmamaktadır (Fernandez ve ark., 2005). Ayrıca sperm hücresinin DNA ipliklerinde var olan kırılmaları spesifik olarak tespit eden yöntemlerde vardır. Bunlar arasında transferaz-mediated dUTP nick end-labeling (TUNEL) metodu ve tek hücre jel elektroforez (COMET) testleri bulunur.

2.8.6. Daha Az Kullanılan Özel Testler

Özel boyama yöntemleri ile sperm akrozom reaksiyonu belirlenebilir. Hemi Zona Assay (HZA) testi yani insan zona pellucidası bağlama testi ile sperm işlevi değerlendirilebilmektedir. Semende bulunan lökositlerin ve sperm hücrelerinin ürettiği reaktif oksijen türevleri (ROS), sperm kreatinin kinaz ölçümü gibi biyokimyasal testler uygulanabilir (Günalp, 2008).

2.9. Semen Analizinde Bazı Değişkenler İçin Kullanılan Terminoloji

DSÖ'nün belirlediği referans değerlerle karşılaştırıldığında bazı semen değişkenlerinde görülen farkları tanımlayabilmek için genellikle sayılar yerine kelimelerle ifade edilen bir terminoloji belirlenmiştir (Günalp, 2008). DSÖ 2010 kriterlerindeki alt referans sınır değerlerine göre belirlenen bu terminoloji Tablo 2.4'te olduğu gibi kullanılmaktadır (WHO, 2010).

Tablo 2.4. Semen analizinde DSÖ 2010 kriterlerine göre terminoloji.

| | |
|-----------------------------------|--|
| Normozoospermi | DSÖ referans değerlerine uygun, normal semen |
| Oligozoospermi | Referans değerden düşük sperm konsantrasyonu (< 15 milyon/ml) |
| Astenozoospermi | Referans değerden düşük ileri hareket oranı (< % 32) |
| Teratozoospermi | Referans değerden düşük normal morfolojili sperm oranı (< % 4) |
| Oligoastenoteratozoospermi | Sayı, hareket ve morfoloji açısından üç değişkeninde birlikte görülmesi |
| Azospermi | Semende hiç sperm hücresi bulunmaması |
| Kriptoospermi | Taze semen örneğinde sperm hücresi olmayıp, yüksek hızda santrifüj sonrası görülmesi |
| Nekrozoospermi | Semen örneğinde canlı sperm hücre oranının cansız sperm hücre oranından az olması |
| Lökospermi | Semende lökosit için referans değer olan 1 milyon/ml'den fazla olması |
| Aspermi | Hiç semen elde edilememesi |

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Örneklerinin Temin Edilmesi ve Gruplandırılması

Çalışma 26.10.2016-20.04.2017 tarihleri arasında Balıkesir Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Androloji Laboratuvarına rutin semen analizi için müracaat eden, semen örnekleri istenilen tahlil yönünden değerlendirilip sonuçları rapor edildikten sonra tıbbi atık olarak ayrılan ve bu çalışmada kullanımına onay veren, yaşları 18-50 arası toplam 100 adet gönüllü hastanın örnekleri ile yapıldı. Çalışmamız Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Uygulamalar Etik Kurulu'nun 19.10.2016 tarih 2016/107 nolu izni ile (bkz. EK-2) gerçekleştirildi. Çalışmaya katılan her hasta için bilgilendirilmiş gönüllü olur formu ile izinleri alındı (bkz. EK-3).

Hastalarla yapılan ilk görüşmede örnek verecekleri günün 2-7 günlük bir cinsel perhiz süresine uyararak gelmeleri belirtildi. Cinsel perhiz süresi uygun olan hastalara üzerinde isimlerinin etiketle yapıştırıldığı ve her birinin ağırlığının tartılıp not edildiği numune toplama kapları verildi. Hastalar, örnek verme sırasında nelere dikkat etmeleri gerektiği konusunda bilgilendirildi. Örneği verdikten sonra laboratuardaki ilgili görevliye teslim etmeleri gerektiği açıklandıktan sonra kendileri için ayrılan örnek verme odasına yönlendirildi. Numune verme işlemi sonrasında laboratuara getirilen numune kapları semen hacmini belirlemek için tekrar tartıldıktan sonra, likefaksiyon işlemi için 37°C sıcaklıktaki inkübatöre koyuldu. Örnekler likefiye olduktan sonra rutin semen analizi yapıldı. Sonuçlar rapor edildikten sonra kalan numune çalışma için ayrıldı. Mikroskopik olarak inceleme yapılırken azospermi olarak değerlendirilen hastalar çalışma dışında tutuldu. 100 gönüllü hastadan elde edilen semen örneklerinin Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile sperm sayımı yapıldı ve sperm konsantrasyonu ayrı ayrı belirlenerek iki yöntemin birbiri ile uyumu değerlendirildi. Daha sonra hastalar, sperm konsantrasyonu; < 10, 10-20, > 20 (milyon/ml) olarak gruplara ayrıldı ve iki

metodun bu referans grupları arasındaki uyumu da incelendi. Ayrıca visköz ve aglütinasyonu olan heterojen örneklerin sperm sayımını etkileyebileceği düşünüldüğü için, bu hasta grupları belirlenerek iki metot arasındaki ölçüm hassasiyetinin değerlendirilmesi yapıldı.

3.2. Semen Analizi

37°C’de inkübe edilerek yaklaşık olarak 30 dakikada likefiye olan semen örnekleri DSÖ 2010 kriterlerine göre analiz edildi. Semen analizinde ilk olarak makroskopik değerlendirme yapıldı. Bu değerlendirme semenin rengi, kokusu, viskozitesi, likefaksiyonu ve hacmini belirlemeye yönelikti. Daha sonra mikroskopik değerlendirmeye alındı. Bu inceleme sperm sayısı, hareket özellikleri, morfoloji, aglütinasyon ve agregasyon olup olmadığı, yuvarlak hücre varlığı, gerektiği durumlarda canlılık belirlemeye yönelikti. Mikroskopik değerlendirme yapmak için semen iyice çalkanarak homojenize edildi ve pipetle 10 µl’lik örnek alınarak Makler sayım kamarasına damlatıldı. Olympus BX53 ışık mikroskobu kullanılarak, 200X büyütmede sperm konsantrasyonu ve sperm hareket özellikleri açısından değerlendirildi. İleri hareketli sperm sayısı ≤ 40 olan hastalara eosin-nigrosin canlılık testi yapıldı. Semen örneğinden smear hazırlandı, havada kurutuldu, fikse edilip Diff-Quick ile boyandı. Takiben sperm morfolojisi ışık mikroskopu kullanılarak, 1000X büyütmede Kruger kriterlerine göre değerlendirildi.

3.3. Sperm Konsantrasyonu Belirleme Metotları

3.3.1. Makler Sperm Sayma Kamarası

Prof Dr. Ammon Makler tarafından geliştirilen bu kamara 20X objektifli ışık mikroskobunda kullanılır. Kamara derinliği 10 µ’dur. Bu derinlik sperm hücrelerinin tek bir düzlemde hareketine olanak sağlamaktadır. Toplam iki parça optik camdan oluşur. Üst camın üzerinde 0,1 x 0,1 mm’lik toplamda 100 kareden oluşan bir ızgara sistemi vardır. İki cam arasındaki aralık 4 quartz nokta ile sabitlenmiştir. Izgara

üzerinde bulunan 10 adet karede sayılan sperm sayısı milyon olarak mililitre başına düşen sperm sayısını verir. Buna göre;

- Likefiye olmuş, iyi karışmış ve seyreltilmemiş taze semen örneğinden pipet yardımı ile 10 µl alınarak, kamaranın merkezine damlatıldı.
- Üzeri üst camı ile hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatıldı.
- Işık mikroskobunun 20X objektif kısmı kullanıldı.
- 200X büyütme altında yukarıdan aşağıya ya da soldan sağa doğru yan yana 10 karelik bir alan içindeki baş ve kuyruk bütünlüğü olan sperm sayıldı.
- Komşu karelerde aynı sperm hücrelerini saymaktan kaçmak için karenin L şeklini alan alt ve sol sınır çizgileri üzerinde yer alan sperm sayılırken, üst ve sağ çizgi üzerindeki sayıma alınmadı.
- Bulunan sayı ml'de kaç milyon sperm olduğunu gösterdi.
- Yuvarlak hücre konsantrasyonu da aynı yöntemle belirlendi.
- Kamara yeniden kullanım için su ile kolayca yıkandı ve cam temizleme mendili ile kurutulurken, yeni bir sayıma hazır hale getirildi.

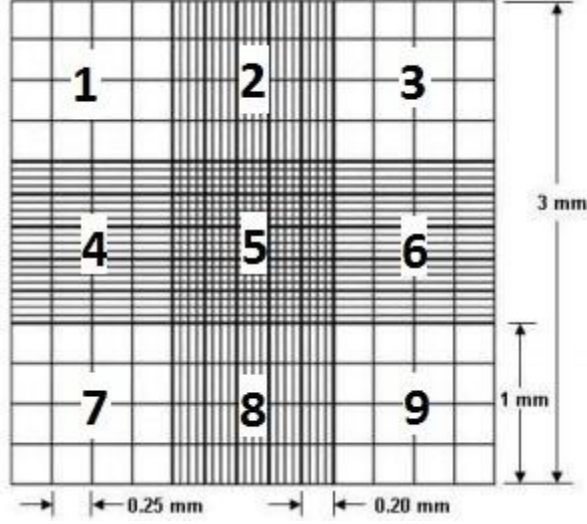


Şekil 3.1. Makler kamara görüntüsü.

3.3.2. Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre

Geliştirilmiş Neubauer hemositometresi; her biri cama kazılmış 3 x 3 mm karelerden oluşan iki sayma alanına sahiptir. Karelerin üzerine 0,44 mm kalınlıkta

özel bir lamel kapatılır. 100 µm derinliğe sahip olan bu kamaranın sayma alanlarının her biri dokuz tane 1 x 1 mm'lik karelere bölünmüştür.



Şekil 3.2. Geliştirilmiş Neubauer hemositometre sayım alanları.

1, 3, 7 ve 9 numaralı dört büyük kare; her birinin hacmi 6,25 nl sıvı tutan 4 karelik 4 sıradan oluşur. 2 ve 8 numaralı iki büyük kare; her birinin hacmi 5 nl sıvı tutan 5 karelik 5 sıradan oluşur. 4 ve 6 numaralı iki büyük kare; her birinin hacmi 5 nl sıvı tutan 4 karelik 5 sıradan oluşur. Ortada yer alan 5 numaralı büyük kare ise her birinin hacmi 4 nl sıvı tutan 5 karelik 5 sıradan oluşur. Toplamda 1 x 1 mm'lik 9 tane büyük kareye bölünen bu kamara sisteminin her bir büyük karesinin hacmi 100 nl'dir. Sayım yapılacak olan alanlar semenin seyreltme oranı ve sperm sayısına göre belirlenir (WHO, 2010). Buna göre;

- Likefiye olmuş, iyice karıştırılarak homojenize edilmiş ve seyreltilmemiş semen numenesinden pipet yardımı ile 10 µl alınarak lam üzerine alındı ve üzerine 22 x 22 mm'lik lamel hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatılarak, 20 µm derinlikte olan ıslak preparat hazırlandı.
- Hazırlanan preparat faz kontrast mikroskopunun 40X objektifi altında incelemeye alındı.
- Birkaç alan taranıp, görme alanı başına düşen sperm sayısı sayıldı.

- Tablo 3.1’de yer alan sperm sayılarına göre uygun olan dilüsyon oranı belirlendi.

Tablo 3.1. Islak preparattaki sperm sayısına göre belirlenen dilüsyon oranları.

| 40X Objektifte görme alanı başına düşen sperm oranı | Dilüsyon oranı | Semen μl | Dilüent μl |
|--|-----------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| Swim up | 1+1 (1:2) | 100 | 100 |
| <15 | 1+4 (1:5) | 100 | 400 |
| 15-40 | 1+9 (1:10) | 50 | 450 |
| 40-200 | 1+19 (1:20) | 50 | 950 |
| > 200 | 1+49 (1:50) | 50 | 2450 |

- Gerekli dilüsyon oranının sağlanabilmesi için dilüent denilen, semeni seyreltici fiksatif kullanıldı.
- Bu fiksatif, 1000 ml saf su içinde 50 g sodyum bikarbonat (NaHCO_3) ve 10 ml % 35 formalini çözerek hazırlandı ve 4°C’de saklandı.
- Sayım yapılacağı zaman semen iyice karıştırıldı ve dilüsyon oranına göre belirtilen semen ve dilüent, pozitif replasmanlı pipet ile uygun hacimde aspire edildi.
- Yapılan her pipetaj işlemi sırasında aspire edilen bütün sıvı hacim aktarıldı ve pipetin hacmi etkileyecek ucu hariç, dış kısmı bu aktarım sırasında hep silindi.
- Hemositometrenin özel lameli hafif buhar yardımı ile sayım kamarasının üzerine yerleştirildi ve yerinden oynamadığı teyit edildi.
- Seyreltilmiş semen karışımı en az 15 sn boyunca vortekslendi.
- Pipet yardımı ile 2-3 kez daha aspire edilen seyreltilmiş semen örneğinden 10 μ l alınarak hemositometrenin sayım alanına aktarıldı.
- Hemositometre aşırı ya da daha az miktarda doldurulmaktan kaçınıldı.
- Seyreltilmiş numune tekrar karıştırılarak yine 10 μ l aspire edildi ve hemositometrenin diğer alanında dolduruldu.

- Hazırlanan hemositometre, içeriğindeki spermin kamarada çökmesi ve bu süre içinde buharlaşmasının önlenmesi için 15 dk boyunca hazırlanmış nem odasında bekletildi.
- Sayım için faz kontrast mikroskopunun 20X'lik objektifi kullanıldı.
- 9 tane büyük sayım alanında 5 numaralı ve ortada yer alan 25 küçük kareli sayma alanı belirlendi.
- Bu sayım alanındaki küçük karelerin her biri 3'lü çizgilerle çevrelenmiştir. Kare sınırı bu üç çizgiden ortada yer alanıdır. Buna göre, sperm başının büyük bölümü iki iç sınır çizgisi arasında ise sperm hücresi sayıldı, iki dış sınır çizgisi arasında ise o kareye ait spermler arasında sayılmadı. Ayrıca komşu karelerde aynı sperm hücrelerini saymaktan kaçınmak için, iki komşu kareyi ayıran çizgide kalan sperm hücrelerinin başı, karenin sol ve alt orta sınırında kalanlar sayıma alındı, karenin sağ ve üst çizgisinde olanlar ise sayıma alınmadı.
- Baş ve kuyruk bütünlüğü olan spermler sayım için kullanıldı.
- Her numuneden alınan iki eş örnekte en azından 200'er sperm hücresi sayıldı.
- Bu sayıya ulaşmak için 5 numaralı büyük kareyi oluşturan 25 küçük kareden sol üstteki karede bulunan sperm sayısı burada kaç alan sayılacağını belirlemektedir. Sayım alanı Tablo 3.2'ye göre belirlendi.

Tablo 3.2. 5 numaralı sayım alanına göre sayılacak alanların belirlenmesi.

| 25 karenin sol üst köşesinde yer alan karedeki sperm sayısı | Sayılacak Kare Sayısı |
|--|----------------------------------|
| <10 | Alandaki 25 karenin tamamını say |
| 10-40 | Alandaki 10 kareyi say |
| >40 | Alandaki 5 kareyi say |

- Sperm sayısının düşük olmasından dolayı alandaki 25 kare sayıldığında 200 adet hücreye ulaşamadıysa sayı 200 olana kadar diğer sayım alanlarında devam edildi. Gerektiğinde bütün alanlar sayıldı.

- Aynı numuneden alınan iki örnekteki sayımlar karşılaştırıldı. Sonuçlar kabul edilir ölçüde ise hesaplamaya devam edildi. Uygun olmadığı durumda tekrar dilüsyon hazırlanarak sayım işlemi tekrar yapıldı. İki sayım sonucunun kabul edilebilir ölçüsü, Tablo 3.3'te belirtilmiştir. Burada iki sayım sonucunun toplamı ve farkı hesaplandı. Eğer fark tabloda verilen değerden daha düşükse sayım kabul edildi.

Tablo 3.3. Belirli bir toplam için iki sayım arasındaki kabul edilebilir farklar (WHO, 2010).

| İki Sayım Sonucunun Toplamı | Kabul Edilebilir Fark | İki Sayım Sonucunun Toplamı | Kabul Edilebilir Fark | İki Sayım Sonucunun Toplamı | Kabul Edilebilir Fark |
|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|
| 35-40 | 12 | 144-156 | 24 | 329-346 | 36 |
| 41-47 | 13 | 157-169 | 25 | 347-366 | 37 |
| 48-54 | 14 | 170-182 | 26 | 367-385 | 38 |
| 55-62 | 15 | 183-196 | 27 | 386-406 | 39 |
| 63-70 | 16 | 197-211 | 28 | 407-426 | 40 |
| 71-79 | 17 | 212-226 | 29 | 427-448 | 41 |
| 80-89 | 18 | 227-242 | 30 | 449-470 | 42 |
| 90-98 | 19 | 243-258 | 31 | 471-492 | 43 |
| 99-109 | 20 | 259-274 | 32 | 493-515 | 44 |
| 110-120 | 21 | 275-292 | 33 | 516-538 | 45 |
| 121-131 | 22 | 293-309 | 34 | 539-562 | 46 |
| 132-143 | 23 | 310-328 | 35 | 563-587 | 47 |

- Sayım sonuçları uyumlu olan örneklerde, sperm konsantrasyonu belirlemek için iki farklı sayımdan elde edilen toplam sperm sayısı Tablo 3.4'te belirtilen dilüsyon faktörlerine bölündü. Dilüsyon faktörü, 5 numaralı alanda sayılan küçük kare sayısı ve dilüsyon oranına göre belirlendi.

Tablo 3.4. 5 numaralı sayım alanı için dilüsyon faktörleri.

| Dilüsyon Oranı | 25 Kare | 10 Kare | 5 Kare |
|-----------------------|----------------|----------------|---------------|
| 1:2 | 100 | 40 | 20 |
| 1:5 | 40 | 16 | 8 |
| 1:10 | 20 | 8 | 4 |
| 1:20 | 10 | 4 | 2 |
| 1:50 | 4 | 1,6 | 0,8 |

- Eğer 200 sperme ulaşmak için birden fazla alan sayıldı ise Tablo 3.5'te belirtilen dilüsyon faktörleri kullanıldı.

Tablo 3.5. Birden çok sayılan alan için dilüsyon faktörleri.

| Dilüsyon Oranı | 2 Alan | 3 Alan | 4 Alan | 5 Alan | 6 Alan | 7 Alan | 8 Alan | 9 Alan |
|-----------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1:2 | 200 | 300 | 400 | 500 | 600 | 700 | 800 | 900 |
| 1:5 | 80 | 120 | 160 | 200 | 240 | 280 | 320 | 360 |
| 1:9 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 |

- Mililitredeki sperm konsantrasyonu, sayılan alan ve dilüsyon oranlarının belirlediği dilüsyon faktörlerine bölünen toplam sperm sayısı ile bulundu.
- Mililitredeki yuvarlak hücre sayısında bu şekilde hesaplandı.
- Sayım işlemi sonrasında hemositometre ve lamel, sperm ve sperm öldürücü özelliği olan dilüent maddesi kalıntılarını uzaklaştırmak için bir gece dezenfektan madde içinde bekletildi (ESHRE; 2002; WHO, 2010)

3.4.Değerlendirme ve İstatistiksel Analiz

Sperm konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılan farklı iki metot ile elde edilen verilerin ve semen parametrelerinin analizi, SPSS sürüm 24 isimli istatistiksel analiz programı ile yapıldı. Bu veriler, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değer şeklinde belirtildi. Farklı iki metotla elde edilen ölçümlerin birbirleri ile ilişkili olup olmadığı ve ne kadar güçlü olduğunu gösterebilmek için istatistiksel bir teknik olan korelasyon katsayısı (r) kullanıldı. R'nin sayısal değeri -1.0 ile +1.0 arasında değişmektedir. Katsayılar, +1.0 veya -1.0'a ne kadar yakın olursa doğrusal ilişkinin gücü okadar yüksek olur şeklinde değerlendirilir. Korelasyon, iki metodun ilişkili olma derecesini belirler. Fakat yüksek korelasyon, iki yöntem arasında iyi bir uyum vardır anlamına gelmez. Bu nedenle tez çalışmamızda yeterli bir ölçüm olamayacağını düşündüğümüz için iki ölçüm arasındaki uyumu tanımlamakta kullanılan en doğru yöntem olan Bland-Altman analizini kullandık. Bu ölçüm, karşılaştırmalı verileri analiz etmek için uyum sınırlarını, grafik tekniklerini ve basit hesaplamaları içeren bir yaklaşıma sahiptir. Grafik, karşılaştırılan iki yöntem arasındaki farklar (Makler kamara-Geliştirilmiş Neubauer hemositometre), iki yöntemin ortalamasına karşı çizilerek oluşturuldu. Çünkü iki metotun ölçtüğü gerçek değerler bilinmemektedir. Gerçek sperm konsantrasyonunun en iyi tahmini göstergesi iki ölçümle elde edilen ortalamalardır. Ayrıca bu analiz içinde Shapiro-Wilk testide kullanılmıştır. Bu test, normallik varsayımını sınavan en güçlü testlerden biridir. $P>0,05$ ise, dağılımın normal olduğu kararı verildi.

4. BULGULAR

4.1. Rutin Semen Analizi Bulguları

Bu çalışmaya, Balıkesir Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Androloji Laboratuvarına rutin semen analizi testi için gelen gönüllü 100 hasta dahil edildi. Araştırmaya katılan 100 gönüllü hasta için yaş ve incelenen semen parametrelerinin dağılımları Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Bu tabloya göre gönüllü hastaların yaşları 20-48 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 30,95 ($\pm 5,50$), cinsel perhiz süreleri 3-7 gün arasında değişmekte olup, ortalama cinsel perhiz süresi 3,98 ($\pm 1,00$) gün, semen hacimleri ml cinsinden 0,3-9,6 ml arasında değişmekte olup, ortalama semen hacmi 3,58 ($\pm 1,62$) ml bulundu. Sperm konsantrasyonları Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometresi ile ayrı ayrı belirlendi. Makler kamara ile yapılan sayıma göre sperm konsantrasyonları milyon/ml cinsinden 0-641 milyon/ml arasında değişmekte olup, ortalama sperm konsantrasyonu 69,61 ($\pm 86,62$) milyon/ml, Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile yapılan sayıma göre sperm konsantrasyonları milyon/ml cinsinden 0,06-470 milyon/ml arasında değişmekte olup, ortalama sperm konsantrasyonu 47,58 ($\pm 60,75$) milyon/ml bulundu. Total sperm sayıları her iki sayım odasına göre ayrı ayrı belirlendi. Makler kamara ile yapılan sayıma göre total sperm sayıları milyon adet cinsinden 0,3-1666,6 milyon adet arasında değişmekte olup, ortalama total sperm sayısı 245,10 ($\pm 302,04$) milyon adet, Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile yapılan sayıma göre total sperm sayıları milyon adet cinsinden 0,004-1222,0 milyon adet arasında değişmekte olup, ortalama total sperm sayısı 164,80 ($\pm 199,43$) milyon adet bulundu. Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre arasındaki sperm konsantrasyon farklılıklarının belirlenmesi için daha sonra Bland-Altman analizi ile iki metot değerlendirildi. Yuvarlak hücre konsantrasyonu da sperm konsantrasyonu gibi hem Makler kamara hem de Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile ayrı ayrı değerlendirildi. Makler kamara ile yapılan sayıma göre yuvarlak hücre konsantrasyonları milyon/ml cinsinden 0-41 milyon/ml arasında değişmekte olup,

ortalama yuvarlak hücre konsantrasyonu 1,61 ($\pm 5,82$) milyon/ml, Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile yapılan sayıma göre yuvarlak hücre konsantrasyonları milyon/ml cinsinden 0-35 milyon/ml arasında değişmekte olup, ortalama yuvarlak hücre konsantrasyonu 0,98 ($\pm 4,15$) milyon/ml bulundu. Sperm hareketi a, b, c ve d tipi olarak kategorize edildi ve % birimi şeklinde rapor edildi. Buna göre a tipi motiliteye sahip sperm % cinsinden 0-53 arasında değişmekte olup, ortalama a tipi hareket % 13,36 ($\pm 9,53$), b tipi motiliteye sahip sperm % cinsinden 0-61 arasında değişmekte olup, ortalama b tipi hareket % 31,73 ($\pm 15,11$), c tipi motiliteye sahip sperm % cinsinden 0-28 arasında değişmekte olup, ortalama c tipi hareket % 8,41 ($\pm 4,23$) ve d tipi motiliteye sahip sperm % cinsinden 18-100 arasında değişmekte olup, ortalama d tipi hareket % 46,50 ($\pm 19,76$) bulundu. Son olarak sperm morfoloji değerlendirilmesi amacıyla Diff-Quik ile boyanan spermeler Kruger'in kesin kriterlerine göre incelenerek; normal sperm, baş-orta parça-kuyruk anomalisi, sitoplazmik droplete sahip sperm yüzdesi ve TZI değeri belirlendi. Araştırmaya katılan 100 gönüllü hastanın 4 tanesinde morfolojik açıdan değerlendirilecek sayıda sperm elde edilememesi sonucunda morfoloji n=96 hasta ile değerlendirildi. Buna göre; normal morfolojiye sahip sperm oranı % 0-27 arasında değişmekte olup, ortalama normal morfolojili sperm % 9,32 ($\pm 6,55$), baş anomalisine sahip sperm oranı % 67-100 arasında değişmekte olup, ortalama baş anomalili sperm % 84,64 ($\pm 8,85$), orta parça anomalisine sahip sperm oranı % 6-46 arasında değişmekte olup, ortalama orta parça anomalili sperm % 23,44 ($\pm 8,41$), kuyruk anomalisine sahip sperm oranı % 7-82 arasında değişmekte olup, ortalama kuyruk anomalili sperm % 26,51 ($\pm 12,28$), sitoplazmik droplete sahip sperm oranı % 0-24 arasında değişmekte olup, ortalama sitoplazmik dropletli sperm % 3,07 ($\pm 3,95$), TZI değeri % 1,21-1,94 arasında değişmekte olup, ortalama TZI değeri 1,51 ($\pm 0,15$) olarak bulundu.

Tablo 4.1. Araştırma popülasyonu için yaş ve semen parametrelerinin dağılımı.

| Parametreler | N | Ortalama | Standart Sapma | Minimum | Maksimum |
|----------------------------|-----|----------|----------------|---------|----------|
| Yaş (yıl) | 100 | 30,95 | 5,50 | 20 | 48 |
| Cinsel perhiz süresi (gün) | 100 | 3,98 | 1,00 | 3 | 7 |

Tablo 4.1 (devam). Araştırma popülasyonu için yaş ve semen parametrelerinin dağılımı.

| | | | | | |
|---|-----|--------|--------|-------|--------|
| Hacim (ml) | 100 | 3,58 | 1,62 | 0,3 | 9,6 |
| Makler kamara ile yapılan sayıma göre sperm konsantrasyonu (milyon/ml) | 100 | 69,61 | 86,62 | 0 | 641 |
| Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile yapılan sayıma göre sperm konsantrasyonu (milyon/ml) | 100 | 47,58 | 60,75 | 0,06 | 470 |
| Makler kamara ile yapılan sayıma göre toplam sperm sayısı (milyon adet) | 100 | 245,10 | 302,04 | 0,3 | 1666,6 |
| Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile yapılan sayıma göre toplam sperm sayısı (milyon adet) | 100 | 164,80 | 199,43 | 0,004 | 1222,0 |
| Makler kamara ile yapılan sayıma göre yuvarlak hücre konsantrasyonu (milyon/ml) | 100 | 1,61 | 5,82 | 0 | 41 |
| Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile yapılan sayıma göre yuvarlak hücre konsantrasyonu (milyon/ml) | 100 | 0,98 | 4,15 | 0 | 35 |
| A tipi motilite (%) | 100 | 13,36 | 9,53 | 0 | 53 |
| B tipi motilite (%) | 100 | 31,73 | 15,11 | 0 | 61 |
| C tipi motilite (%) | 100 | 8,41 | 4,23 | 0 | 28 |
| D tipi motilite (%) | 100 | 46,50 | 19,76 | 18 | 100 |
| Normal morfolojili sperm (%) | 96 | 9,32 | 6,55 | 0 | 27 |
| Baş anomalisi (%) | 96 | 84,64 | 8,85 | 67 | 100 |
| Orta parça anomalisi (%) | 96 | 23,44 | 8,41 | 6 | 46 |
| Kuyruk anomalisi (%) | 96 | 26,51 | 12,28 | 7 | 82 |
| Sitoplazmik droplet (%) | 96 | 3,07 | 3,95 | 0 | 24 |
| TZI (%) | 96 | 1,51 | 0,15 | 1,21 | 1,94 |

4.2. Semen Viskozite Durumuna Göre Hasta Dağılım Bulguları

Rutin semen analizi uygulaması sırasında incelenen parametreler arasında semen viskozite durumu da yer almaktadır. Gönüllü 100 hastanın semen örnekleri viskozite açısından değerlendirilerek, Tablo 4.2’de belirtildiği şekilde semen viskozitesine göre hasta dağılımına yer verilmiştir. Buna göre; çalışmaya katılan gönüllü hasta semenlerinin % 74’ü normal, % 26’sı ise visköz özellikte bulundu. Daha sonra viskozite varlığının, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile elde edilen sperm sayım sonuçları üzerinde etkisi olabilirliği Bland-Altman analizi ile değerlendirildi.

Tablo 4.2. Semen viskozitesine göre hasta dağılımı (%).

| Hasta Grubu Özellikleri | N | % |
|-------------------------|-----|-------|
| Normal | 74 | 74,0 |
| Visköz | 26 | 26,0 |
| Total | 100 | 100,0 |

4.3. Semende Aglütinasyon Varlığına Göre Hasta Dağılım Bulguları

Rutin semen analizi uygulaması sırasında incelenen parametreler arasında semen aglütinasyon durumu da yer almaktadır. Gönüllü 100 hastanın semen örnekleri aglütinasyon açısından değerlendirilerek, Tablo 4.3’de belirtildiği şekilde semende aglütinasyon varlığına göre hasta dağılımına yer verilmiştir. Buna göre; çalışmaya katılan gönüllü hasta semenlerinin % 91’i aglütinasyon yok, % 9’u ise aglütinasyona var olarak bulundu. Daha sonra aglütinasyon varlığının, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile elde edilen sperm sayım sonuçları üzerinde etkisi olabilirliği Bland-Altman analizi ile değerlendirildi.

Tablo 4.3. Semende aglütinasyon varlığına göre hasta dağılımı (%).

| Hasta Grubu Özellikleri | N | % |
|-------------------------|-----|-------|
| Aglütinasyon var | 9 | 9,0 |
| Aglütinasyon yok | 91 | 91,0 |
| Total | 100 | 100,0 |

4.4. Sperm Konsantrasyonlarının Tanısal Gruplara Göre Dağılım Bulguları

ESHRE'nin belirlemiş olduğu kriterler kullanılarak, sperm konsantrasyonu referans aralıkları; < 10 milyon/ml ise Patolojik, 10-20 milyon/ml ise Sınır Değer, \geq 20 milyon/ml ise Normal olarak tanısal gruplara ayrıldı. Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometreden elde edilen sperm konsantrasyonların almış olduğu tanısal değerlerin %'si Tablo 4.4'te olduğu gibi belirtildi. Buna göre; Makler kamara ile belirlenen sperm konsantrasyonlarının karşılık geldiği tanısal gruplardaki hasta dağılımı; < 10 milyon/ml ise patolojik olan hasta % 22, 10-20 milyon/ml ise sınır değer olan hasta % 9, \geq 20 milyon/ml ise normal olan hasta % 69 olarak bulundu. Geliştirilmiş Neubauer hemositometresi ile belirlenen sperm konsantrasyonlarının karşılık geldiği tanısal gruplardaki hasta dağılımı; < 10 milyon/ml ise patolojik olan hasta % 28, 10-20 milyon/ml ise sınır değer olan hasta % 8, \geq 20 milyon/ml ise normal olan hasta % 64 olarak bulundu. Bu referans aralıklarına göre, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemi arasındaki sayım farklılığının değerlendirilmesi Bland-Altman analizi ile yapıldı.

Tablo 4.4. Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre ile belirlenen sperm konsantrasyonlarının tanısal gruplara göre dağılımı (%).

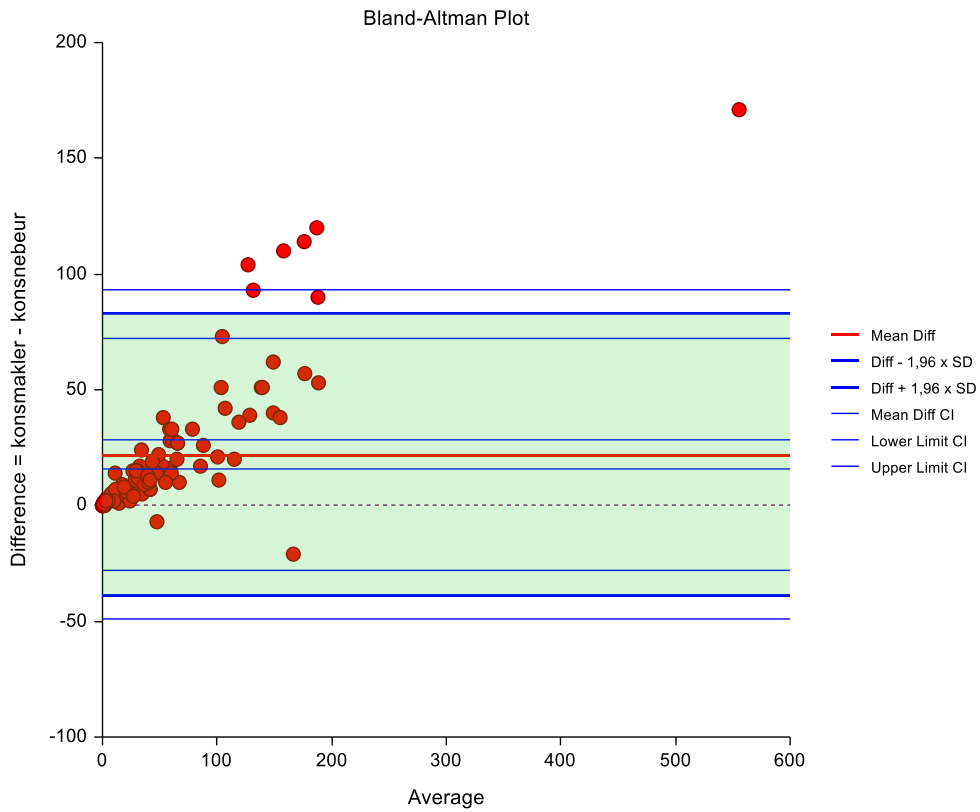
| Sperm Konsantrasyonuna Göre Tanısal Gruplandırma (milyon/ml) | Makler Kamara | | Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre | |
|--|---------------|-------|--------------------------------------|-------|
| | N | % | N | % |
| < 10 Patolojik | 22 | 22,0 | 28 | 28,0 |
| 10-20 Sınır Değer | 9 | 9,0 | 8 | 8,0 |
| ≥ 20 Normal | 69 | 69,0 | 64 | 64,0 |
| Total | 100 | 100,0 | 100 | 100,0 |

4.5. Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi

İlk olarak n=100 hasta üzerinden, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometrenin birbiri ile ilişkili olma derecesini belirlemek için korelasyon katsayısı (r) hesaplandı. Katsayılar +1.0 veya -1.0'a ne kadar yakın olursa doğrusal ilişkinin gücü okadar yüksek olarak değerlendirildi (r'nin sayısal değeri -1.0 ve +1.0 arasında değişmektedir). r=0,97 olarak bulundu. Bu durum karşılaştırılan iki ölçüm yönteminin yüksek korelasyona sahip olduğunu göstermesine rağmen, iki ölçüm arasında iyi bir uyum vardır anlamına gelmediğinden dolayı sonraki adımda Bland-Altman grafiğinden yararlanıldı.

Bland-Altman analizi için, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntem karşılaştırılması çalışmasına iki yöntemden elde edilen ölçümlerin ortalamalarına karşı farkların saçılım grafiğinin çizilmesi ile başlandı. Şekil 4.1'de belirtildiği gibi ortaya çıkan grafikte y eksenini Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ölçümlerinin arasındaki farkı, x eksenini ise iki yöntem arasındaki ölçümlerin ortalamasını gösterdi. Ayrıca bu grafikte farkların sistematik olarak 0'dan farklılığına ve farkların ne kadar yaygın olduğuna bakıldı. İki yöntem arasındaki uyumun incelenmesi farkların ortalaması (\bar{d}) ve standart sapma (s) kullanılarak belirlendi. $\bar{d} \pm 1,96s$ uyum sınırı olarak değerlendirildi. Farkların 0'ın

etrafında rastgale dağılması ve % 95'inin $\bar{d} \pm 1,96s$ arasında olması farkların normal dağılımı olduğunu gösterdi. Buna göre, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile sperm konsantrasyon ölçümleri karşılaştırıldığında, iki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması (\bar{d}) 22,03 iken standart sapması 30,99 olarak bulundu. %95'i için güven aralığı ($\bar{d} - 1,96s$ ile $\bar{d} + 1,96s$) 15,89 ile 28,18 arasında tespit edildi. İstatistiksel sonuca göre; Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 22,03 birim yüksek okuduğu bulundu (Tablo 4.5).



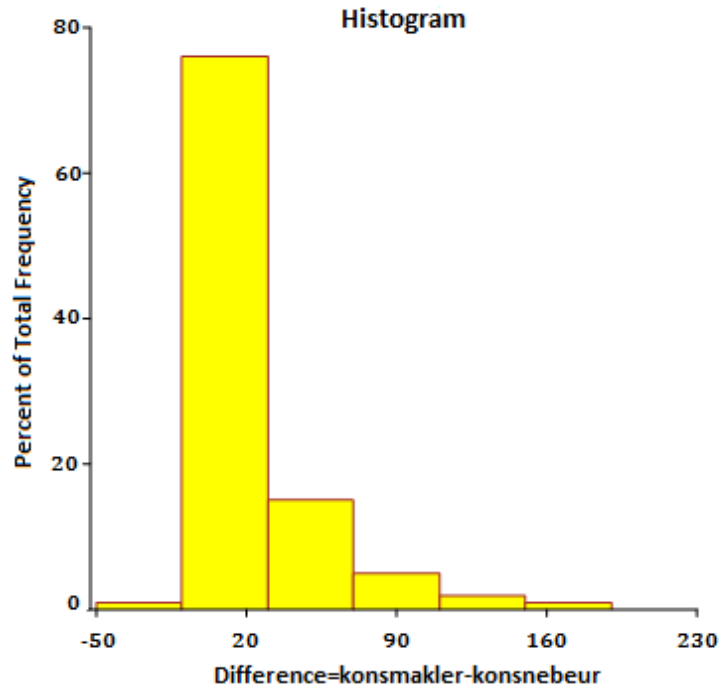
Şekil 4.1. Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

Tablo 4.5. İki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları.

(*=İki ölçüm sonucunun ortalama farkı, *=Çarpma işlemi)

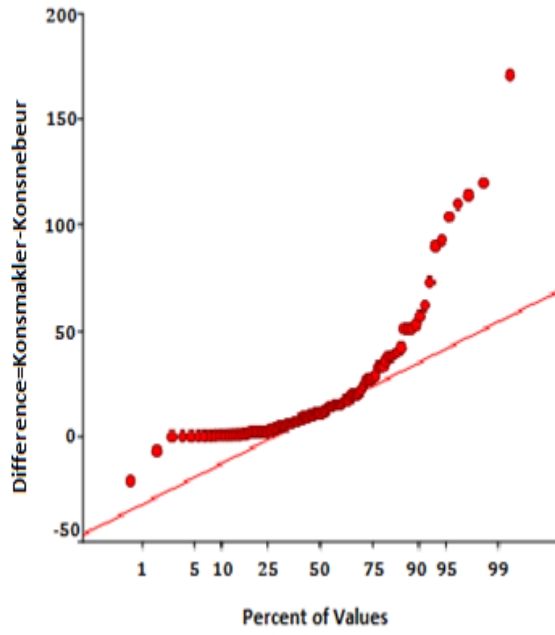
| Metot | N | Ortalama | Standart Sapma | Uyum Sınırları |
|--------------------------------------|-----|----------|----------------|-------------------------|
| | | | | $\bar{d} \pm 1,96 * ss$ |
| Makler Kamara | 100 | 69,61 | 86,62 | 52,42 - 86,80 |
| Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre | 100 | 47,58 | 60,75 | 35,52 - 59,63 |
| Ortalama Fark | 100 | *22,03 | 30,99 | 15,89 – 28,18 |

Ayrıca farkların normal dağılımı histogram çizilerek ve normallik varsayımını sınanan testlerden biri olan Shapiro-Wilk testi kullanılarak doğrulanmaya çalışıldı ($p > 0,05$ düzeyinde anlamlı ise hipotez kabul edildi). $P = 0,73$ bulundu ve dağılımın normal dağılımda olduğu yorumu yapıldı (Şekil 4.2, 4.3, 4.4).

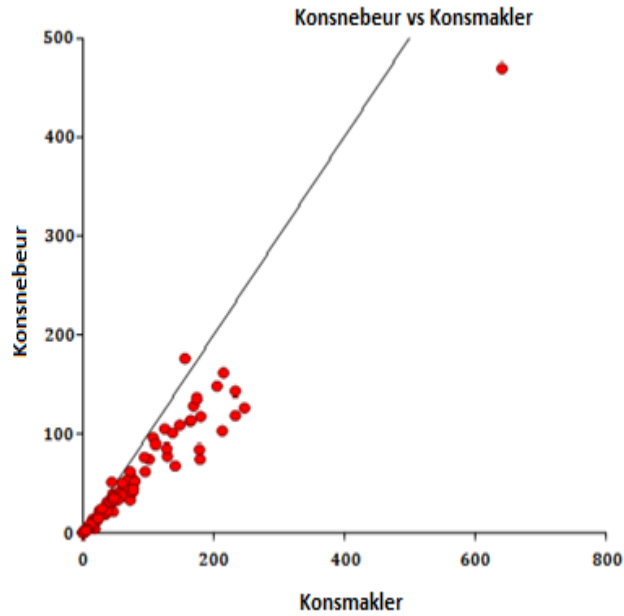


Şekil 4.2. Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).

Normal Probability Plot of Difference=Konsmakler-Konsnebeur



Şekil 4.3. Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği.



Şekil 4.4. Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği.

4.6. Farklı Konsantrasyon Aralıklarında Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi

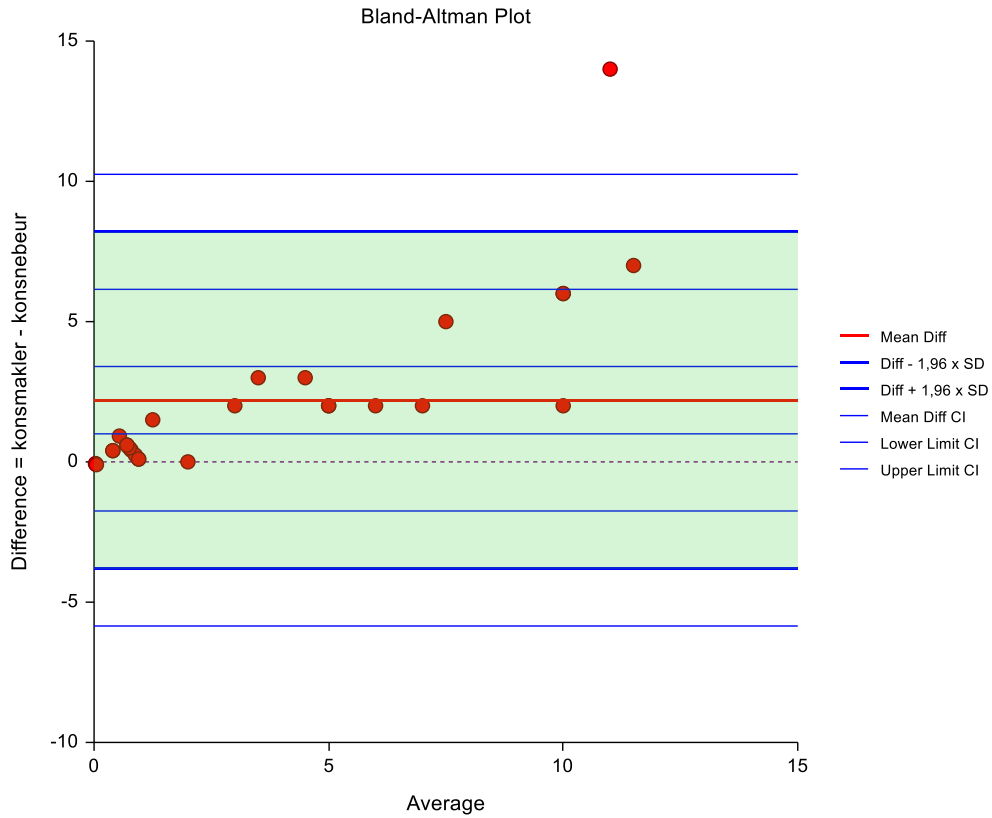
Şekil 4.1’de görüldüğü üzere Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ölçüm sonuçları arasında 22,03 birimlik ölçüm farkı bulundu. Bu grafiğin incelenmesi sırasında sperm konsantrasyonu arttıkça ölçümler arasındaki ortalama farkında arttığı dikkatimizi çekti. Bundan yola çıkarak ESHRE’nin belirlemiş olduğu kriterleri kullanıp, sperm konsantrasyon referans aralıkları; < 10 milyon/ml ise Patolojik, 10-20 milyon/ml ise Sınır Değer, ≥ 20 milyon/ml ise Normal olarak tanısal gruplara ayırdı. Bu referans aralıklarındaki konsantrasyonlara göre Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ölçüm sonuçlarının birbiri ile uyumu incelendi.

4.6.1. 0-10 Milyon/ml Referans Aralığındaki Konsantrasyonlara Göre İki Yöntem Arasındaki Uyumun Değerlendirilmesi

İlk olarak Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometrenin belirtilen referans aralığında, birbiri ile ilişkili olma derecesini belirlemek için korelasyon katsayısı (r) hesaplandı. Katsayılar +1.0 veya -1.0’a ne kadar yakın olursa doğrusal ilişkinin gücü okadar yüksek olarak değerlendirildi (r’nin sayısal değeri -1.0 ve +1.0 arasında değişmektedir). $r=0,88$ olarak bulundu. Bu durum karşılaştırılan iki ölçüm yönteminin pozitif korelasyona sahip olduğunu göstermesine rağmen, iki ölçüm arasında iyi bir uyum vardır anlamına gelmediğinden dolayı sonraki adımda Bland-Altman grafiğinden yararlanıldı.

Bland-Altman analizi için Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntem karşılaştırılması çalışmasına, 0-10 milyon/ml referans aralığına göre, iki yöntemden elde edilen ölçümlerin ortalamalarına karşı farkların saçılım grafiğinin çizilmesi ile başlandı. Şekil 4.5’de belirtildiği gibi ortaya çıkan grafikte y eksenini Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ölçümlerinin arasındaki farkı, x eksenini ise iki yöntem arasındaki ölçümlerin ortalamasını gösterdi. Ayrıca bu grafikte farkların sistematik olarak 0’dan farklılığına

ve farkların ne kadar yaygın olduğuna bakıldı. İki yöntem arasındaki uyumun incelenmesi farkların ortalaması (\bar{d}) ve standart sapma (s) kullanılarak belirlendi. $\bar{d} \pm 1,96s$ uyum sınırı olarak değerlendirildi. Farkların 0'ın etrafında rastgale dağılması ve % 95'inin $\bar{d} \pm 1,96s$ arasında olması farkların normal dağılımı olduğunu gösterdi. Buna göre, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile sperm konsantrasyon ölçümleri 0-10 milyon/ml referans aralığına göre karşılaştırıldığında, iki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması (\bar{d}) 2,20 iken standart sapması 3,06 olarak bulundu. %95'i için güven aralığı ($\bar{d} - 1,96s$ ile $\bar{d} + 1,96s$) 1,01 ile 3,39 arasında tespit edildi. İstatistiksel sonuca göre; 0-10 milyon/ml referans aralığında, Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 2,20 birim yüksek okuduğu bulundu (Tablo 4.6).

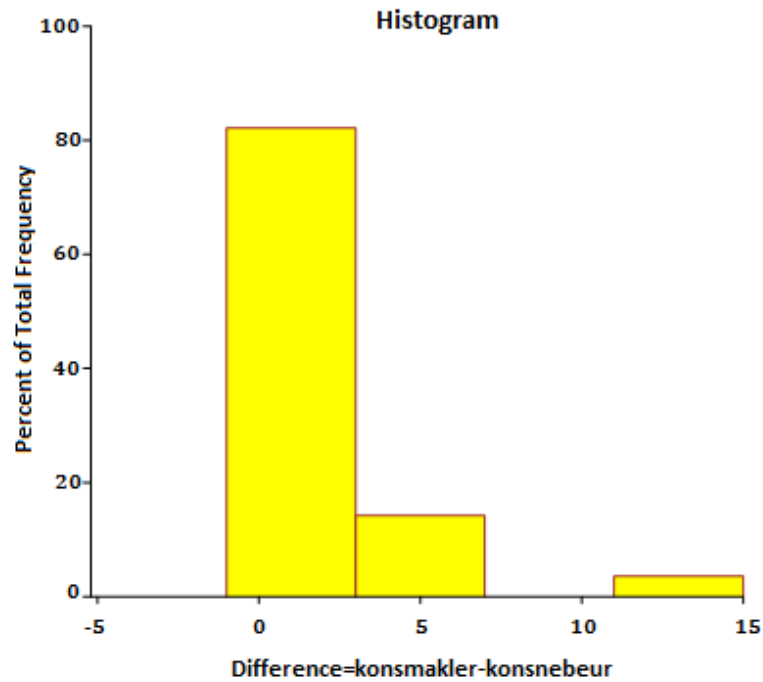


Şekil 4.5. 0-10 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

Tablo 4.6. 0-10 milyon/ml referans aralığında iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları.
(*=İki ölçüm sonucunun ortalama farkı, *=Çarpma işlemi)

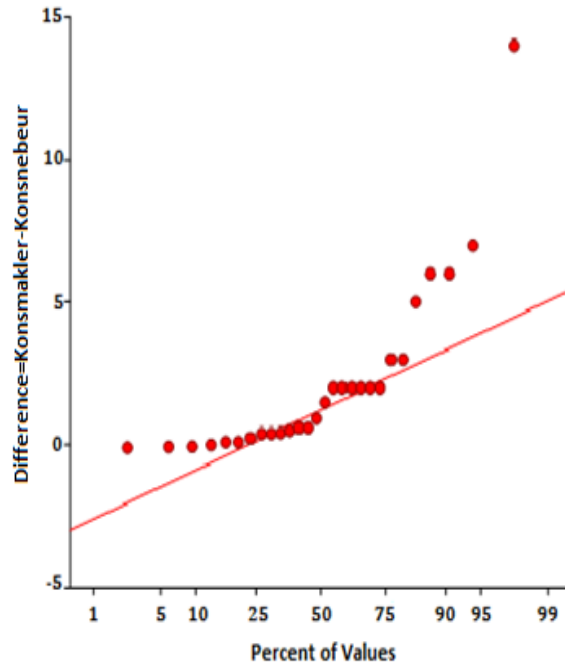
| Metot | N | Ortalama | Standart Sapma | Uyum Sınırları |
|--------------------------------------|----|----------|----------------|-------------------------|
| | | | | $\bar{d} \pm 1,96 * ss$ |
| Makler Kamara | 28 | 4,83 | 5,21 | 2,81 – 6,85 |
| Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre | 28 | 2,63 | 2,77 | 1,55 – 3,70 |
| Ortalama Fark | 28 | *2,20 | 3,06 | 1,01 – 3,39 |

Ayrıca farkların normal dağılımı histogram çizilerek ve normallik varsayımını sınanan testlerden biri olan Shapiro-Wilk testi kullanılarak doğrulanmaya çalışıldı ($p > 0,05$ düzeyinde anlamlı ise hipotez kabul edildi). $P = 0,71$ bulundu ve dağılımın normal dağılımda olduğu yorumu yapıldı (Şekil 4.6, 4.7, 4.8).

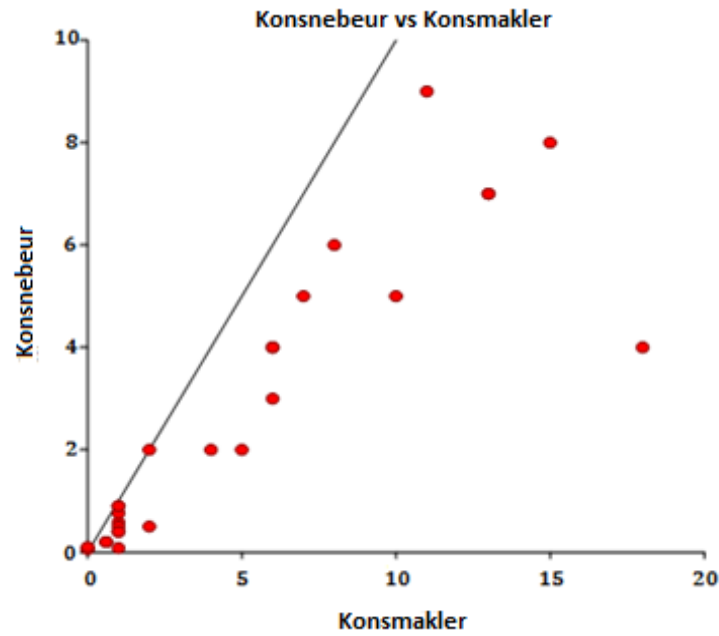


Şekil 4.6. 0-10 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).

Normal Probability Plot of Difference=Konsmakler-Konsnebeur



Şekil 4.7. 0-10 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği.

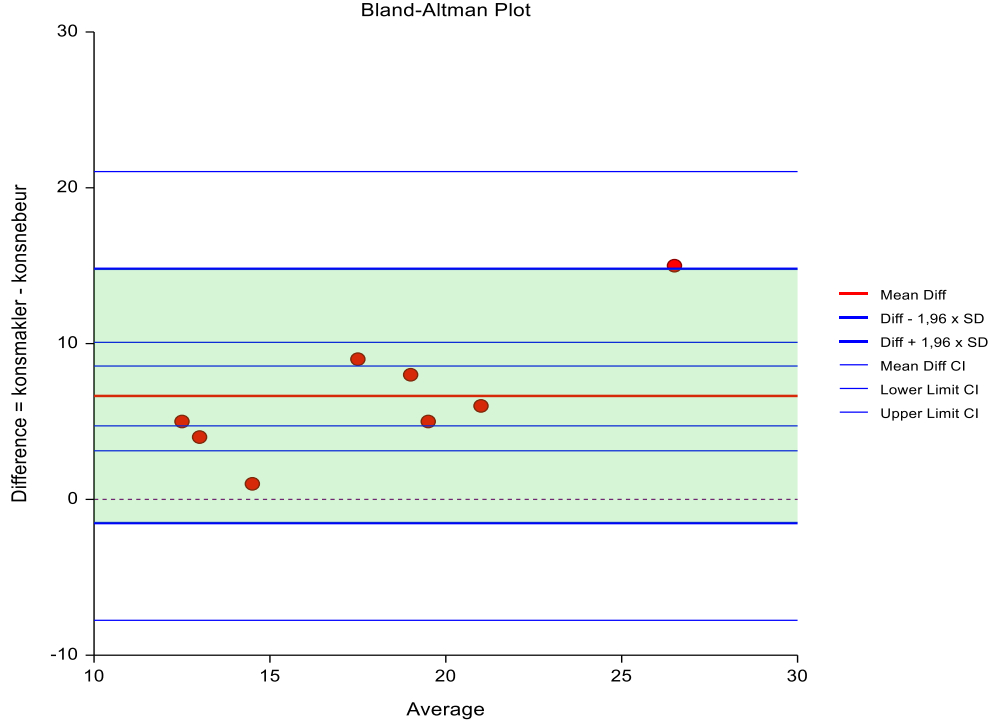


Şekil 4.8. 0-10 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği.

4.6.2. 10-20 Milyon/ml Referans Aralığındaki Konsantrasyonlara Göre İki Yöntem Arasındaki Uyumun Değerlendirilmesi

İlk olarak Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometrenin belirtilen referans aralığında, birbiri ile ilişkili olma derecesini belirlemek için korelasyon katsayısı (r) hesaplandı. Katsayılar +1.0 veya -1.0'a ne kadar yakın olursa doğrusal ilişkinin gücü okadar yüksek olarak değerlendirildi (r'nin sayısal değeri -1.0 ve +1.0 arasında değişmektedir). $r=0,83$ olarak bulundu. Bu durum karşılaştırılan iki ölçüm yönteminin pozitif korelasyona sahip olduğunu göstermesine rağmen, iki ölçüm arasında iyi bir uyum vardır anlamına gelmediğinden dolayı sonraki adımda Bland-Altman grafiğinden yararlandı.

Bland-Altman analizi için Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntem karşılaştırılması çalışmasına, 10-20 milyon/ml referans aralığına göre, iki yöntemden elde edilen ölçümlerin ortalamalarına karşı farkların saçılım grafiğinin çizilmesi ile başlandı. Şekil 4.9'da belirtildiği gibi ortaya çıkan grafikte y eksenini Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ölçümlerinin arasındaki farkı, x eksenini ise iki yöntem arasındaki ölçümlerin ortalamasını gösterdi. Ayrıca bu grafikte farkların sistematik olarak 0'dan farklılığına ve farkların ne kadar yaygın olduğuna bakıldı. İki yöntem arasındaki uyumun incelemesi farkların ortalaması (\bar{d}) ve standart sapma (s) kullanılarak belirlendi. $\bar{d}\pm 1,96s$ uyum sınırı olarak değerlendirildi. Farkların 0'ın etrafında rastgale dağılması ve % 95'inin $\bar{d}\pm 1,96s$ arasında olması farkların normal dağılımı olduğunu gösterdi. Buna göre, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile sperm konsantrasyon ölçümleri 10-20 milyon/ml referans aralığına göre karşılaştırıldığında, iki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması (\bar{d}) 6,62 iken standart sapması 4,17 olarak bulundu. %95'i için güven aralığı ($\bar{d}-1,96s$ ile $\bar{d}+1,96s$) 3,14 ile 10,11 arasında tespit edildi. İstatistiksel sonuca göre; 10-20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 6,62 birim yüksek okuduğu bulundu (Tablo 4.7).

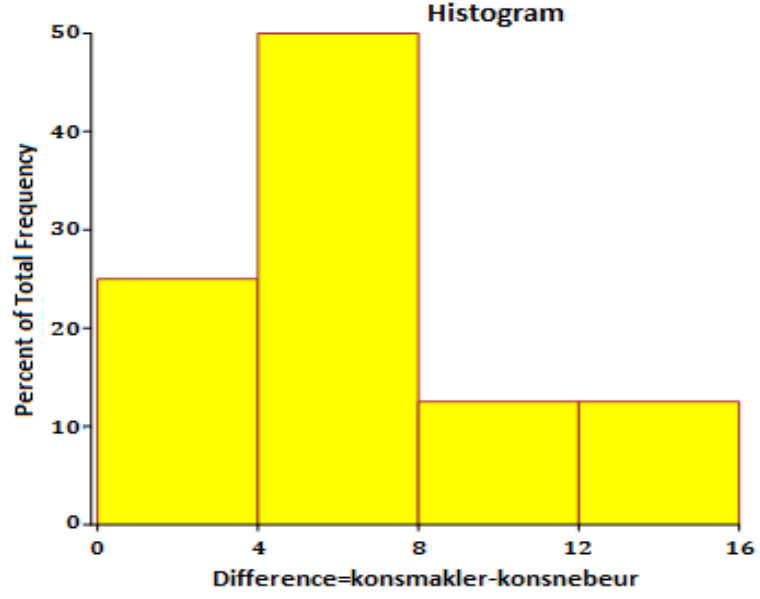


Şekil 4.9. 10-20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

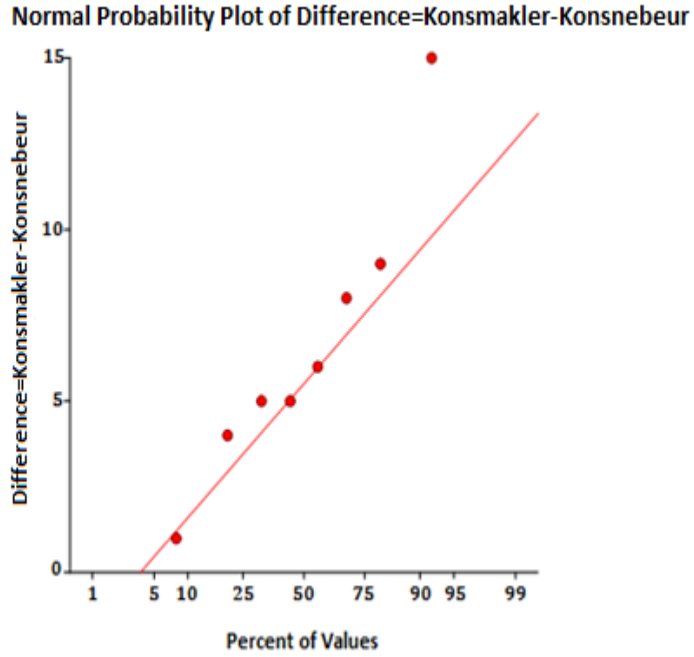
Tablo 4.7. 10-20 milyon/ml referans aralığında iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları. (*=İki ölçüm sonucunun ortalama farkı, *=Çarpma işlemi)

| Metot | N | Ortalama | Standart Sapma | Uyum Sınırları |
|--------------------------------------|---|----------|----------------|-------------------------|
| | | | | $\bar{d} \pm 1,96 * ss$ |
| Makler Kamara | 8 | 21,25 | 6,45 | 15,85 – 26,64 |
| Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre | 8 | 14,62 | 3,25 | 11,91 – 17,34 |
| Ortalama Fark | 8 | *6,62 | 4,17 | 3,14 – 10,11 |

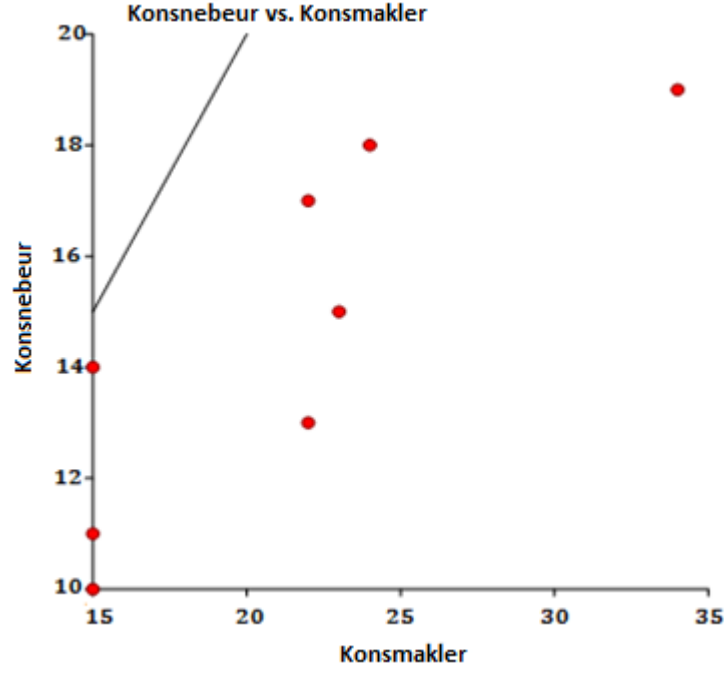
Ayrıca farkların normal dağılımı histogram çizilerek ve normallik varsayımını sınanan testlerden biri olan Shapiro-Wilk testi kullanılarak doğrulanmaya çalışıldı ($p > 0,05$ düzeyinde anlamlı ise hipotez kabul edildi). $P = 0,93$ bulundu ve dağılımın normal dağılımda olduğu yorumu yapıldı (Şekil 4.10, 4.11, 4.12).



Şekil 4.10. 10-20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).



Şekil 4.11. 10-20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği.



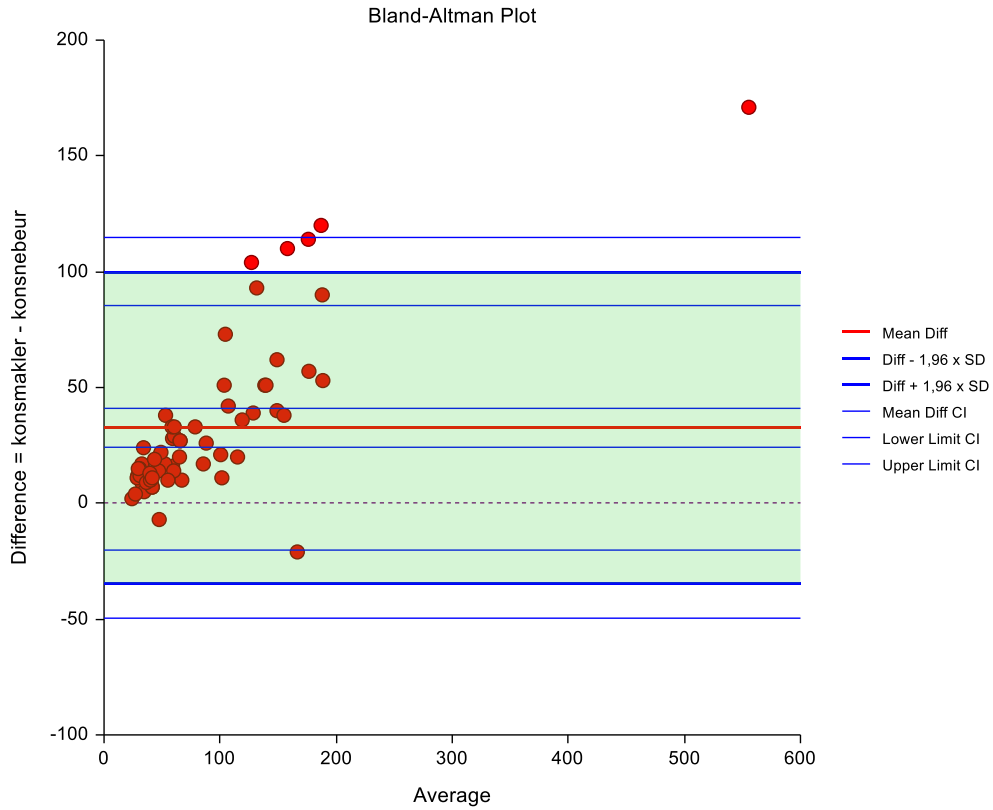
Şekil 4.12. 10-20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği.

4.6.3. ≥ 20 Milyon/ml Referans Aralığındaki Konsantrasyonlara Göre İki Yöntem Arasındaki Uyumun Değerlendirilmesi

İlk olarak Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometrenin belirtilen referans aralığında, birbiri ile ilişkili olma derecesini belirlemek için korelasyon katsayısı (r) hesaplandı. Katsayılar +1.0 veya -1.0'a ne kadar yakın olursa doğrusal ilişkinin gücü okadar yüksek olarak değerlendirildi (r'nin sayısal değeri -1.0 ve +1.0 arasında değişmektedir). $r=0,96$ olarak bulundu. Bu durum karşılaştırılan iki ölçüm yönteminin pozitif korelasyona sahip olduğunu göstermesine rağmen, iki ölçüm arasında iyi bir uyum vardır anlamına gelmediğinden dolayı sonraki adımda Bland-Altman grafiğinden yararlandı.

Bland-Altman analizi için Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntem karşılaştırılması çalışmasına, ≥ 20 milyon/ml referans aralığına göre, iki yöntemden elde edilen ölçümlerin ortalamalarına karşı farkların saçılım grafiğinin çizilmesi ile başlandı. Şekil 4.13 de belirtildiği gibi ortaya çıkan

grafikte y eksenini Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ölçümlerinin arasındaki farkı, x eksenini ise iki yöntem arasındaki ölçümlerin ortalamasını gösterdi. Ayrıca bu grafikte farkların sistematik olarak 0'dan farklılığına ve farkların ne kadar yaygın olduğuna bakıldı. İki yöntem arasındaki uyumun incelemesi farkların ortalaması (\bar{d}) ve standart sapma (s) kullanılarak belirlendi. $\bar{d} \pm 1,96s$ uyum sınırı olarak değerlendirildi. Farkların 0'ın etrafında rastgale dağılması ve % 95'inin $\bar{d} \pm 1,96s$ arasında olması farkların normal dağılımı olduğunu gösterdi. Buna göre, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile sperm konsantrasyon ölçümleri ≥ 20 milyon/ml referans aralığına göre karşılaştırıldığında, iki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması (\bar{d}) 32,64 iken standart sapması 34,41 olarak bulundu. %95'i için güven aralığı ($\bar{d} - 1,96s$ ile $\bar{d} + 1,96s$) 24,04 ile 41,24 arasında tespit edildi. İstatistiksel sonuca göre; ≥ 20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 32,64 birim yüksek okuduğu bulundu (Tablo 4.8).

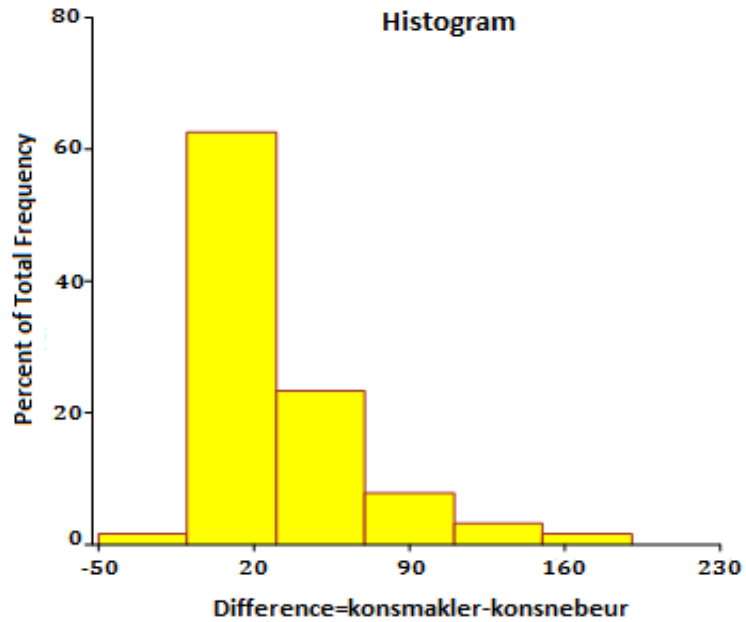


Şekil 4.13. ≥ 20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

Tablo 4.8. ≥ 20 milyon/ml referans aralığında iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları.
(*=İki ölçüm sonucunun ortalama farkı, *=Çarpma işlemi)

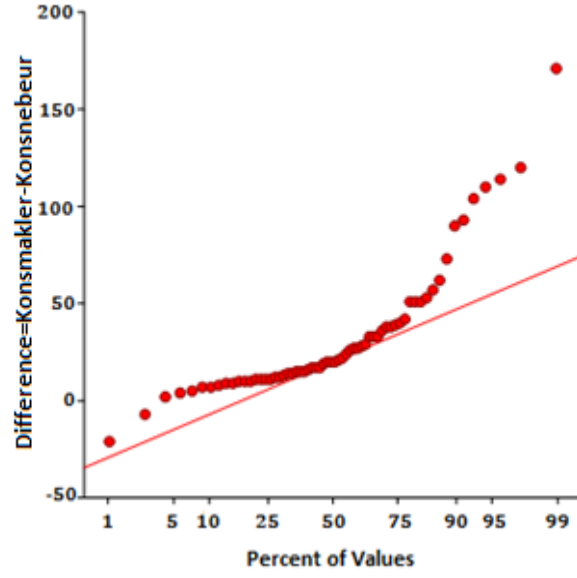
| Metot | N | Ortalama | Standart Sapma | Uyum Sınırları |
|--------------------------------------|----|----------|----------------|-------------------------|
| | | | | $\bar{d} \pm 1,96 * ss$ |
| Makler Kamara | 64 | 104,0 | 91,71 | 81,09 – 126,91 |
| Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre | 64 | 71,36 | 64,69 | 55,20 – 87,52 |
| Ortalama Fark | 64 | *32,64 | 34,41 | 24,04 – 41,24 |

Ayrıca farkların normal dağılımı histogram çizilerek ve normallik varsayımını sınanan testlerden biri olan Shapiro-Wilk testi kullanılarak doğrulanmaya çalışıldı ($p > 0,05$ düzeyinde anlamlı ise hipotez kabul edildi). $P = 0,80$ bulundu ve dağılımın normal dağılımda olduğu yorumu yapıldı (Şekil 4.14, 4.15, 4.16).

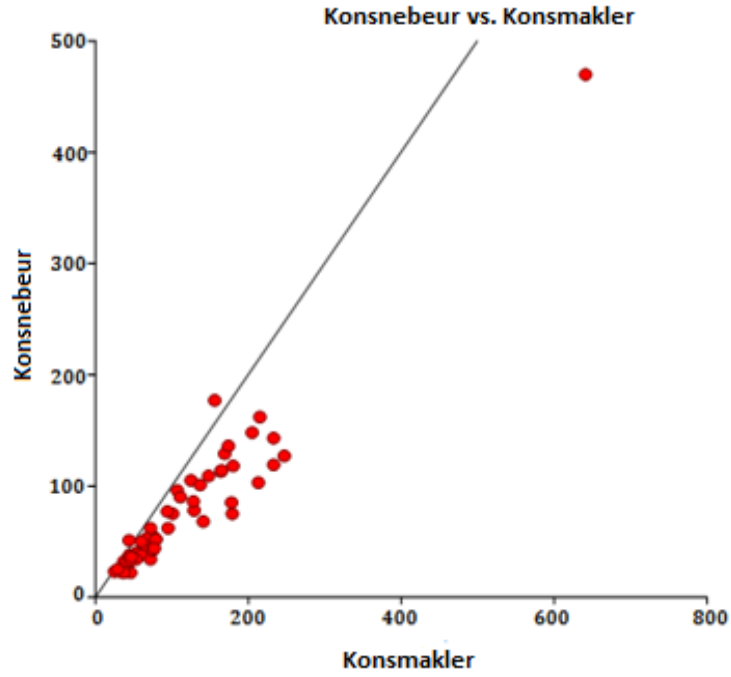


Şekil 4.14. ≥ 20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).

Normal Probability Plot of Difference=Konsmakler-Konsnebeur



Şekil 4.15. ≥ 20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği.



Şekil 4.16. ≥ 20 milyon/ml referans aralığında, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği.

4.7. Semen Viskozitesinin Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyuma Etkisinin Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi

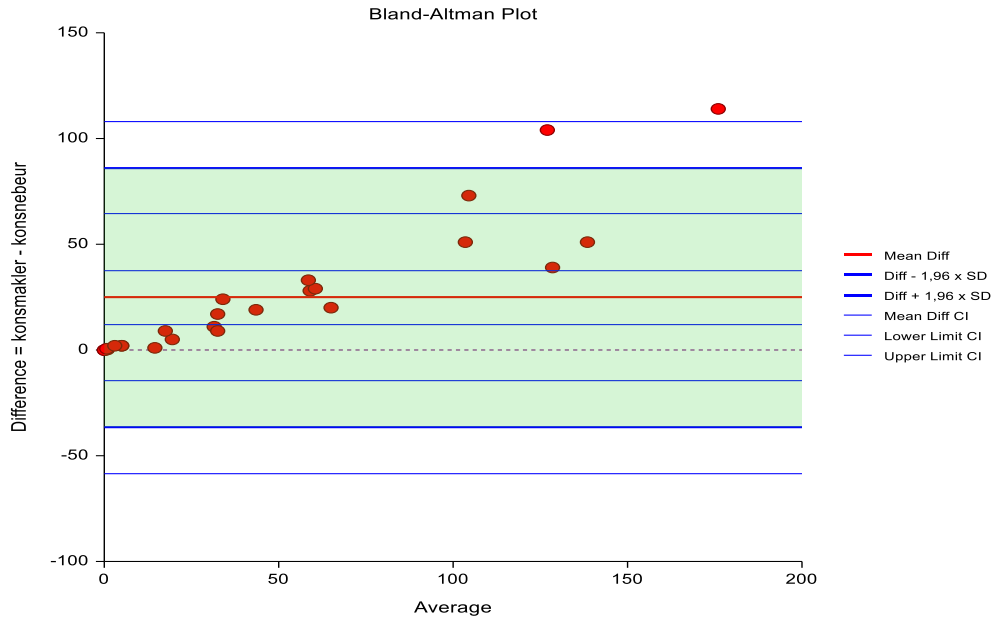
100 gönüllü hastanın semen örneği viskozite durumuna göre değerlendirildi. n=26'sı viskoz özellikte semene sahip olduğu belirlendi (Tablo 4.2). Buna göre; viskoz olan ve olmayan semenin Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemi arasındaki uyuma etkisi Bland-Altman analizi ile incelendi.

4.7.1. Visköz Özellikteki Semen Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyuma Etkisinin Değerlendirilmesi

İlk olarak viskoz özellikteki semen numunelerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometrenin birbiri ile ilişkili olma derecesini belirlemek için korelasyon katsayısı (r) hesaplandı. Katsayılar +1.0 veya -1.0'a ne kadar yakın olursa doğrusal ilişkinin gücü okadar yüksek olarak değerlendirildi (r'nin sayısal değeri -1.0 ve +1.0 arasında değişmektedir). $r=0,97$ olarak bulundu. Bu durum karşılaştırılan iki ölçüm yönteminin yüksek korelasyona sahip olduğunu göstermesine rağmen, iki ölçüm arasında iyi bir uyum vardır anlamına gelmediğinden dolayı sonraki adımda Bland-Altman grafiğinden yararlanıldı.

Bland-Altman analizi için Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntem karşılaştırılması çalışmasına, viskoz örneklerde iki yöntemden elde edilen ölçümlerin ortalamalarına karşı farkların saçılım grafiğinin çizilmesi ile başlandı. Şekil 4.17'de belirtildiği gibi ortaya çıkan grafikte y eksenini Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ölçümlerinin arasındaki farkı, x eksenini ise iki yöntem arasındaki ölçümlerin ortalamasını gösterdi. Ayrıca bu grafikte farkların sistematik olarak 0'dan farklılığına ve farkların ne kadar yaygın olduğuna bakıldı. İki yöntem arasındaki uyumun incelenmesi farkların ortalaması (\bar{d}) ve standart sapma (s) kullanılarak belirlendi. $\bar{d}\pm 1,96s$ uyum sınırı olarak değerlendirildi. Farkların 0'ın etrafında rastgele dağılması ve % 95'inin $\bar{d}\pm 1,96s$ arasında olması farkların normal dağılımı olduğunu gösterdi. Buna göre, Makler

kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile sperm konsantrasyon ölçümleri visköz örneklerde karşılaştırıldığında, iki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması (\bar{d}) 24,77 iken standart sapması 31,35 olarak bulundu. %95'i için güven aralığı ($\bar{d}-1,96s$ ile $\bar{d}+1,96s$) 12,11 ile 37,43 arasında tespit edildi. İstatistiksel sonuca göre; visköz numunelerde, Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 24,77 birim yüksek okuduğu bulundu (Tablo 4.9).



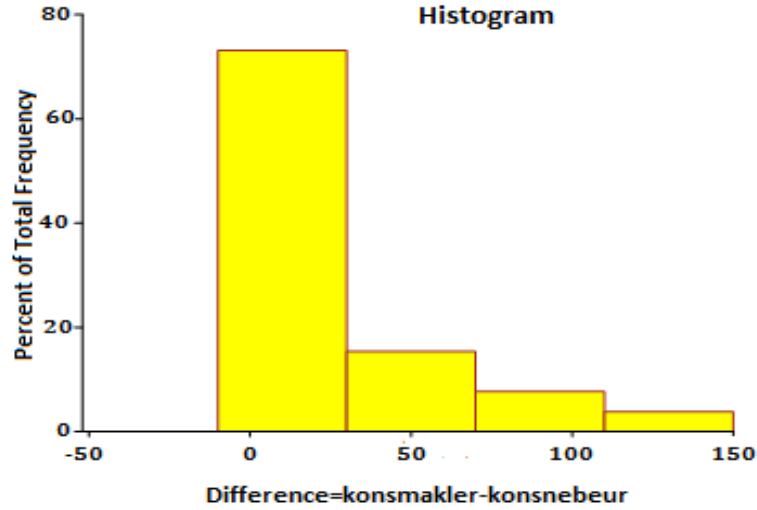
Şekil 4.17. Visköz semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

Tablo 4.9. Visköz semen örneklerinde iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları.

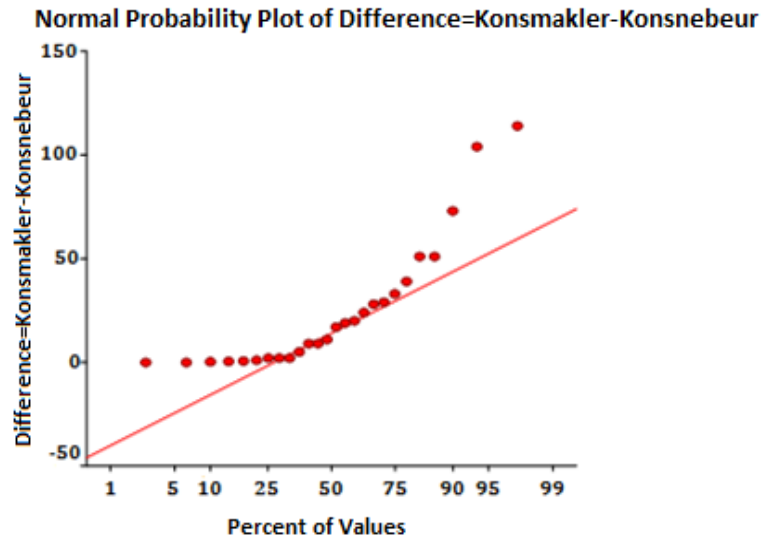
(*=İki ölçüm sonucunun ortalama farkı, *=Çarpma işlemi)

| Metot | N | Ortalama | Standart Sapma | Uyum Sınırları |
|--------------------------------------|----|----------|----------------|----------------------|
| | | | | $\bar{d}\pm 1,96*ss$ |
| Makler Kamara | 26 | 60,92 | 65,72 | 34,38 – 87,47 |
| Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre | 26 | 36,15 | 37,13 | 21,15 – 51,15 |
| Ortalama Fark | 26 | *24,77 | 31,35 | 12,11 – 37,43 |

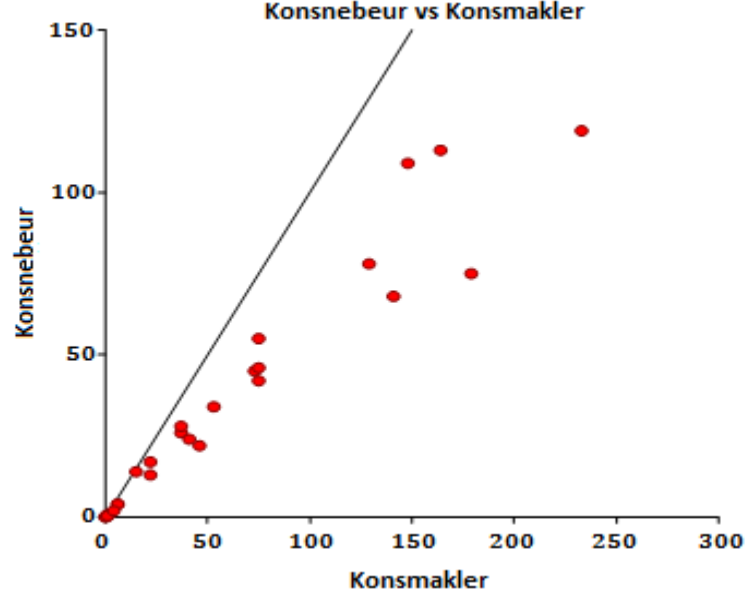
Ayrıca farkların normal dağılımı histogram çizilerek ve normallik varsayımını sınavan testlerden biri olan Shapiro-Wilk testi kullanılarak doğrulanmaya çalışıldı ($p > 0,05$ düzeyinde anlamlı ise hipotez kabul edildi). $P=0,77$ bulundu ve dağılımın normal dağılımda olduğu yorumu yapıldı (Şekil 4.18, 4.19, 4.20).



Şekil 4.18. Visköz semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).



Şekil 4.19. Visköz semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği.



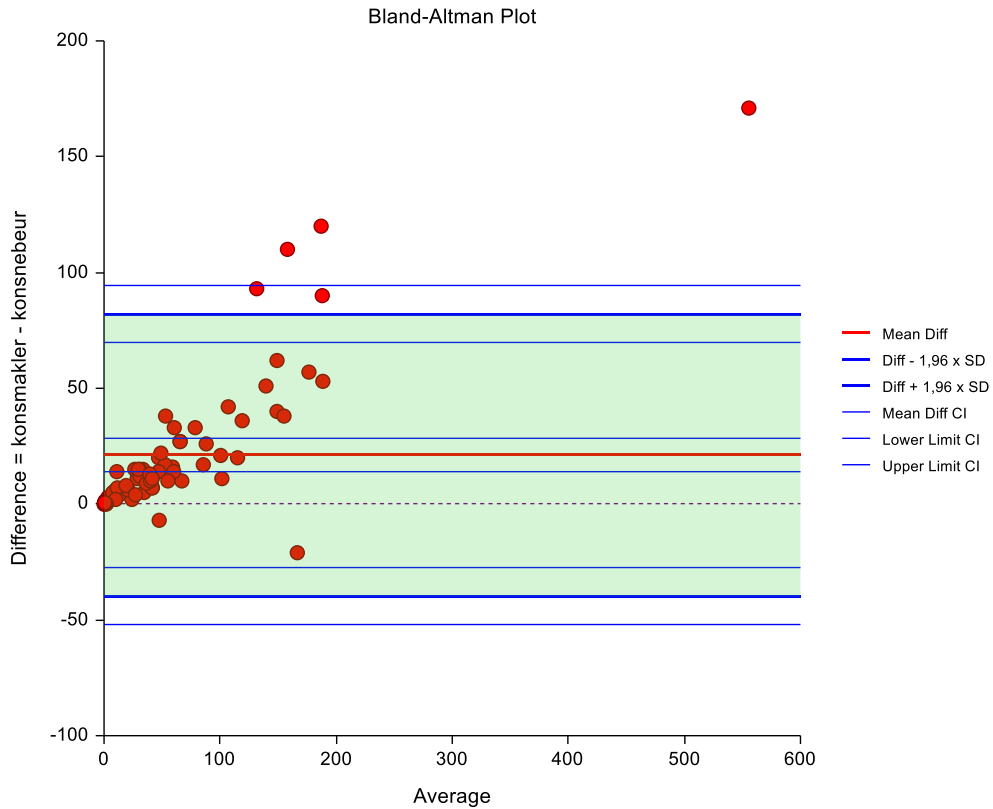
Şekil 4.20. Visköz semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği.

4.7.2. Visköz Olmayan Semen'in Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyuma Etkisinin Değerlendirilmesi

İlk olarak visköz özellikte olmayan semen numunelerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometrenin birbiri ile ilişkili olma derecesini belirlemek için korelasyon katsayısı (r) hesaplandı. Katsayılar $+1.0$ veya -1.0 'a ne kadar yakın olursa doğrusal ilişkinin gücü okadar yüksek olarak değerlendirildi (r 'nin sayısal değeri -1.0 ve $+1.0$ arasında değişmektedir). $r=0,98$ olarak bulundu. Bu durum karşılaştırılan iki ölçüm yönteminin yüksek korelasyona sahip olduğunu göstermesine rağmen, iki ölçüm arasında iyi bir uyum vardır anlamına gelmediğinden dolayı sonraki adımda Bland-Altman grafiğinden yararlanıldı.

Bland-Altman analizi için Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntem karşılaştırılması çalışmasına, visköz olmayan örneklerde iki yöntemden elde edilen ölçümlerin ortalamalarına karşı farkların saçılım grafiğinin çizilmesi ile başlandı. Şekil 4.21 de belirtildiği gibi ortaya çıkan grafikte y eksenini Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ölçümlerinin arasındaki

farkı, x eksenine ise iki yöntem arasındaki ölçümlerin ortalamasını gösterdi. Ayrıca bu grafikte farkların sistematik olarak 0'dan farklılığına ve farkların ne kadar yaygın olduğuna bakıldı. İki yöntem arasındaki uyumun incelenmesi farkların ortalaması (\bar{d}) ve standart sapma (s) kullanılarak belirlendi. $\bar{d} \pm 1,96s$ uyum sınırı olarak değerlendirildi. Farkların 0'ın etrafında rastgale dağılması ve % 95'inin $\bar{d} \pm 1,96s$ arasında olması farkların normal dağılımı olduğunu gösterdi. Buna göre, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile sperm konsantrasyon ölçümleri visköz olmayan örneklerde karşılaştırıldığında, iki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması (\bar{d}) 21,07 iken standart sapması 31,02 olarak bulundu. %95'i için güven aralığı ($\bar{d} - 1,96s$ ile $\bar{d} + 1,96s$) 13,89 ile 28,26 arasında tespit edildi. İstatistiksel sonuca göre; visköz olmayan numunelerde, Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 21,07 birim yüksek okuduğu bulundu (Tablo 4.10).

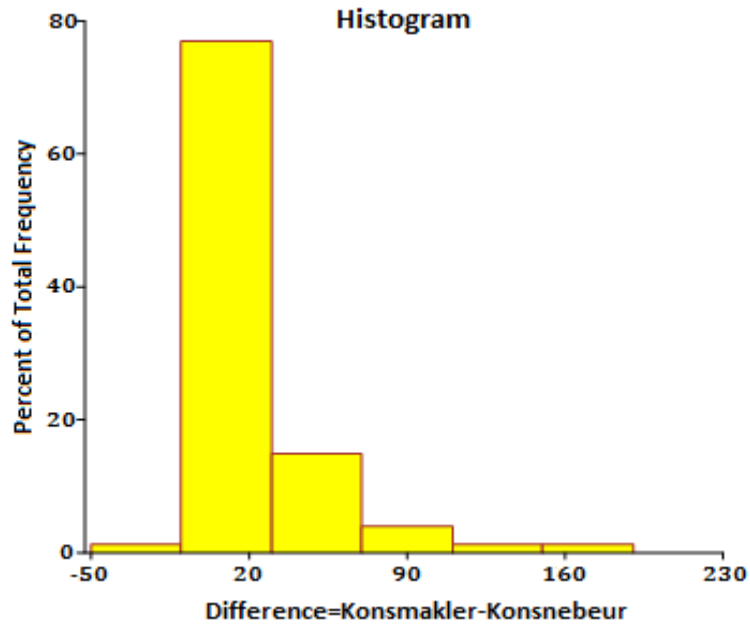


Şekil 4.21. Visköz olmayan semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

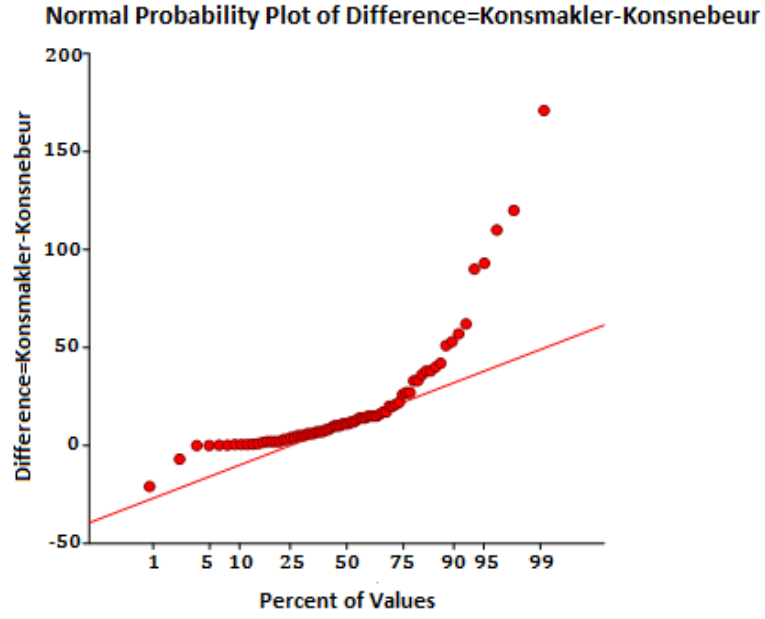
Tablo 4.10. Visköz olmayan semen örneklerinde iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları.
(*=İki ölçüm sonucunun ortalama farkı, *=Çarpma işlemi)

| Metot | N | Ortalama | Standart Sapma | Uyum Sınırları |
|--------------------------------------|----|----------|----------------|-------------------------|
| | | | | $\bar{d} \pm 1,96 * ss$ |
| Makler Kamara | 74 | 72,66 | 93,05 | 51,10 – 94,22 |
| Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre | 74 | 51,59 | 66,86 | 36,10 – 67,08 |
| Ortalama Fark | 74 | *21,07 | 31,02 | 13,89 – 28,26 |

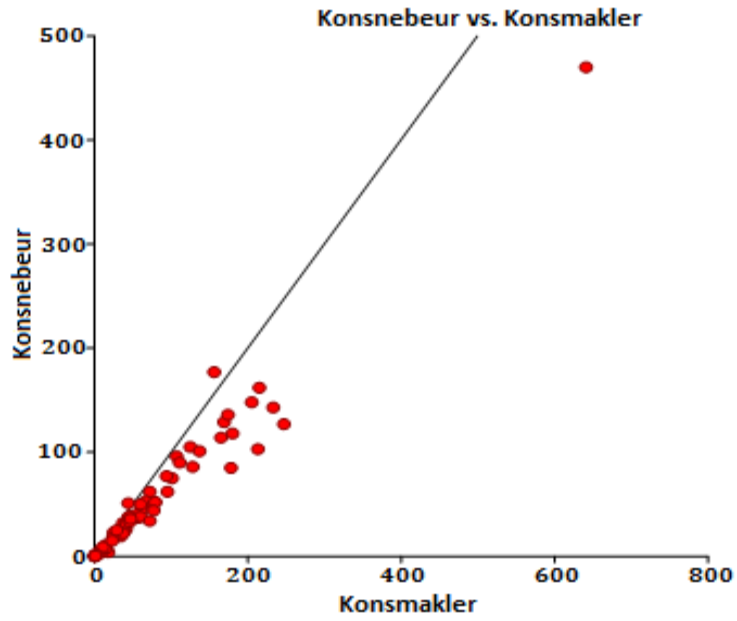
Ayrıca farkların normal dağılımı histogram çizilerek ve normallik varsayımını sınanan testlerden biri olan Shapiro-Wilk testi kullanılarak doğrulanmaya çalışıldı ($p > 0,05$ düzeyinde anlamlı ise hipotez kabul edildi). $P = 0,70$ bulundu ve dağılımın normal dağılımda olduğu yorumu yapıldı (Şekil 4.22, 4.23, 4.24).



Şekil 4.22. Visköz olmayan semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).



Şekil 4.23. Visköz olmayan semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği.



Şekil 4.24. Visköz olmayan semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği.

4.8. Semende Aglutinasyon Varlığının Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyuma Etkisinin Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi

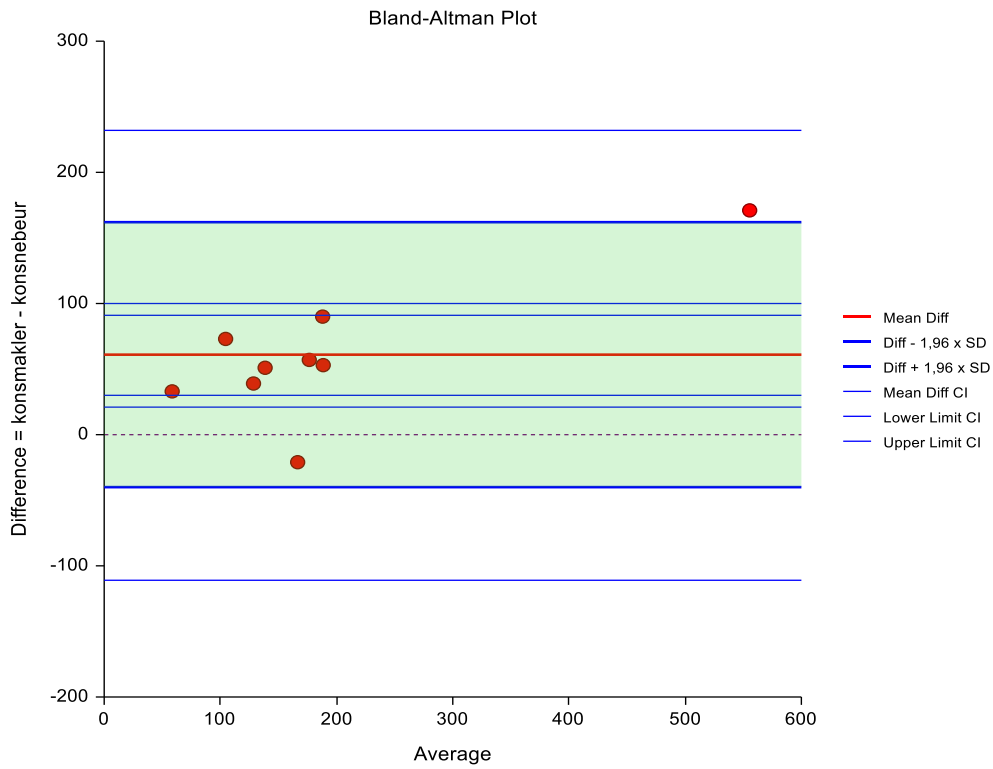
100 gönüllü hastanın semen örneği aglutinasyon varlığına göre değerlendirildi. n=9'unda aglutinasyon belirlendi (Tablo 4.3). Buna göre; aglutinasyon (+) ve (-) semenin Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemi arasındaki uyuma etkisi Bland-Altman analizi ile incelendi

4.8.1. Aglutinasyon (+) Olan Semeninin Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyuma Etkisinin Değerlendirilmesi

İlk olarak aglutinasyon (+) semen numunelerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometrenin birbiri ile ilişkili olma derecesini belirlemek için korelasyon katsayısı (r) hesaplandı. Katsayılar +1.0 veya -1.0'a ne kadar yakın olursa doğrusal ilişkinin gücü okadar yüksek olarak değerlendirildi (r'nin sayısal değeri -1.0 ve +1.0 arasında değişmektedir). $r=0,97$ olarak bulundu. Bu durum karşılaştırılan iki ölçüm yönteminin yüksek korelasyona sahip olduğunu göstermesine rağmen, iki ölçüm arasında iyi bir uyum vardır anlamına gelmediğinden dolayı sonraki adımda Bland-Altman grafiğinden yararlandı.

Bland-Altman analizi için Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntem karşılaştırılması çalışmasına, aglutinasyon (+) örneklerde iki yöntemden elde edilen ölçümlerin ortalamalarına karşı farkların saçılım grafiğinin çizilmesi ile başlandı. Şekil 4.25'de belirtildiği gibi ortaya çıkan grafikte y eksenini Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ölçümlerinin arasındaki farkı, x eksenini ise iki yöntem arasındaki ölçümlerin ortalamasını gösterdi. Ayrıca bu grafikte farkların sistematik olarak 0'dan farklılığına ve farkların ne kadar yaygın olduğuna bakıldı. İki yöntem arasındaki uyumun incelenmesi farkların ortalaması (\bar{d}) ve standart sapma (s) kullanılarak belirlendi. $\bar{d}\pm 1,96s$ uyum sınırı olarak değerlendirildi. Farkların 0'ın etrafında rastgele dağılması ve % 95'inin $\bar{d}\pm 1,96s$ arasında olması farkların normal dağılımı olduğunu gösterdi. Buna göre, Makler

kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile sperm konsantrasyon ölçümleri aglütinasyon (+) örneklerde karşılaştırıldığında, iki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması (\bar{d}) 60,67 iken standart sapması 51,55 olarak bulundu. %95'i için güven aralığı ($\bar{d}-1,96s$ ile $\bar{d}+1,96s$) 21,04 ile 100,29 arasında tespit edildi. İstatistiksel sonuca göre; aglütinasyon (+) numunelerde, Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 60,67 birim yüksek okuduğu bulundu (Tablo 4.11).

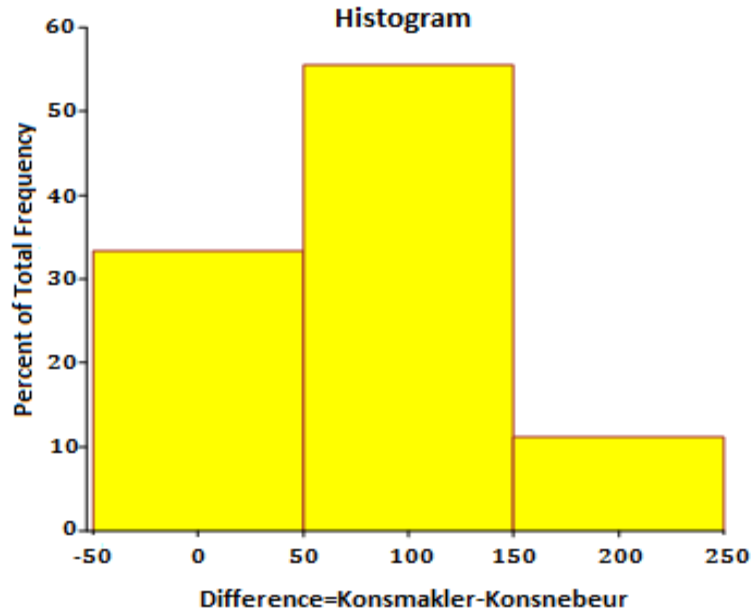


Şekil 4.25. Aglütinasyon (+) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

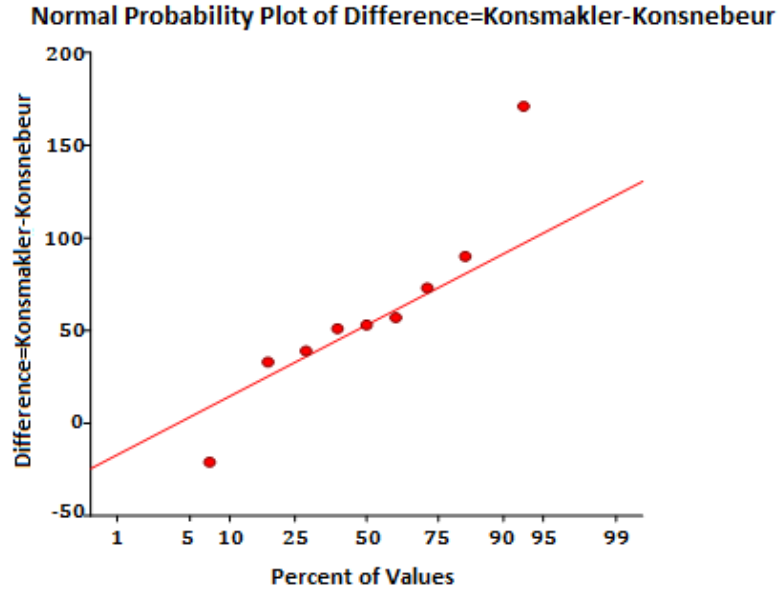
Tablo 4.11. Aglutinasyon (+) semen örneklerinde iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları.
(*=İki ölçüm sonucunun ortalama farkı, *=Çarpma işlemi)

| Metot | N | Ortalama | Standart Sapma | Uyum Sınırları |
|--------------------------------------|---|----------|----------------|-------------------------|
| | | | | $\bar{d} \pm 1,96 * ss$ |
| Makler Kamara | 9 | 219,78 | 164,83 | 93,08 – 346,47 |
| Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre | 9 | 159,11 | 124,51 | 63,41 – 254,82 |
| Ortalama Fark | 9 | * 60,67 | 51,55 | 21,04 – 100,29 |

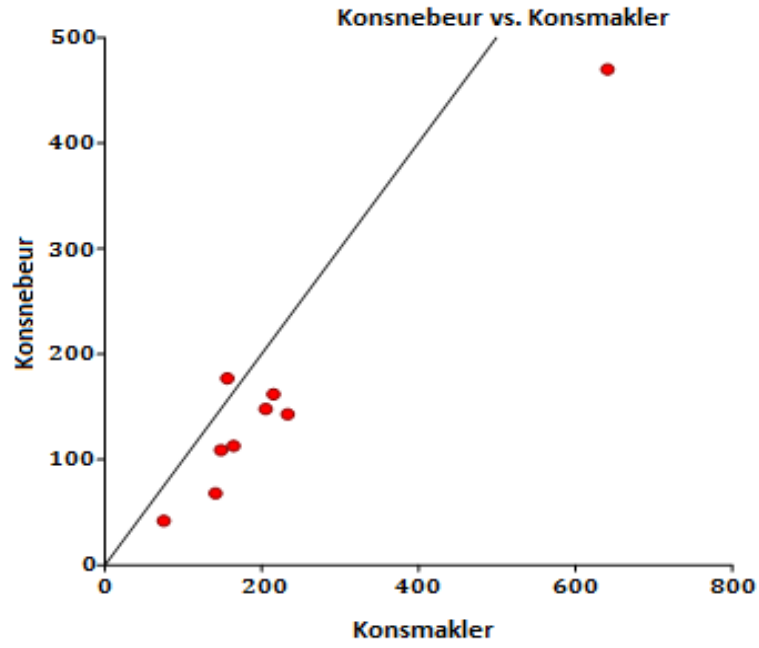
Ayrıca farkların normal dağılımı histogram çizilerek ve normallik varsayımını sınanan testlerden biri olan Shapiro-Wilk testi kullanılarak doğrulanmaya çalışıldı ($p > 0,05$ düzeyinde anlamlı ise hipotez kabul edildi). $P = 0,91$ bulundu ve dağılımın normal dağılımda olduğu yorumu yapıldı (Şekil 4.26, 4.27, 4.28).



Şekil 4.26. Aglutinasyon (+) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).



Şekil 4.27. Aglütinasyon (+) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği.

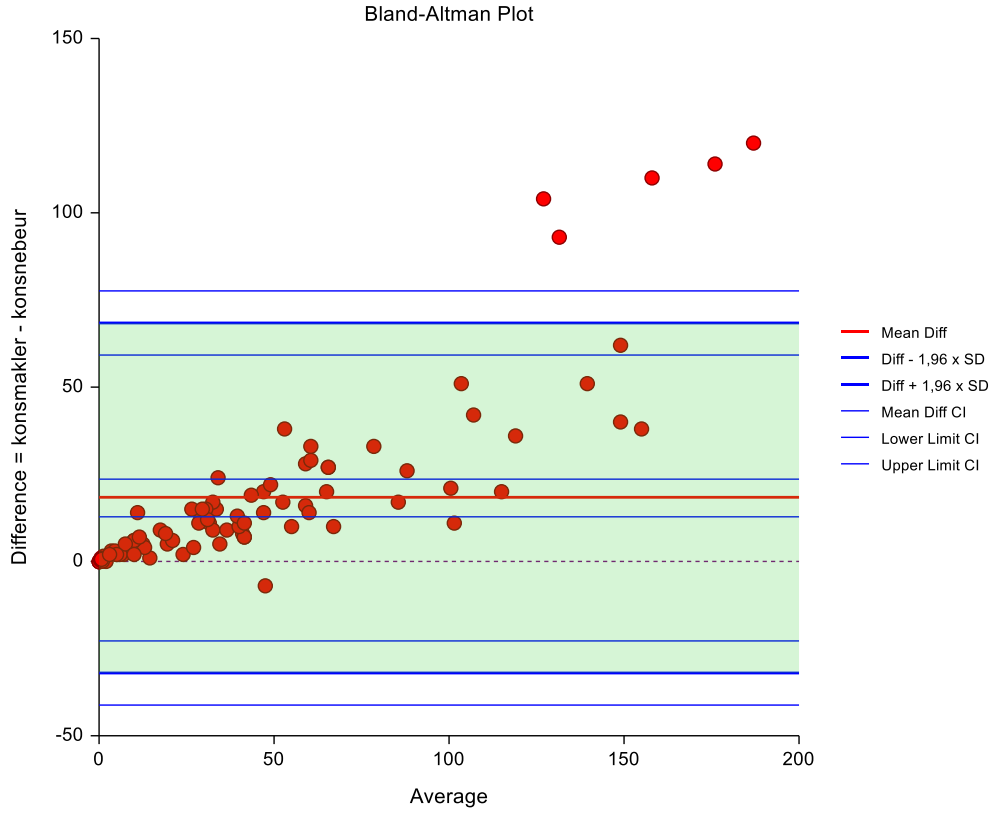


Şekil 4.28. Aglütinasyon (+) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği.

4.8.2. Aglutinasyon (-) Olan Semen Makler Kamara ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre Yöntemi Arasındaki Uyuma Etkisinin Değerlendirilmesi

İlk olarak aglutinasyon (-) semen numunelerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometrenin birbiri ile ilişkili olma derecesini belirlemek için korelasyon katsayısı (r) hesaplandı. Katsayılar +1.0 veya -1.0'a ne kadar yakın olursa doğrusal ilişkinin gücü okadar yüksek olarak değerlendirildi (r'nin sayısal değeri -1.0 ve +1.0 arasında değişmektedir). $r=0,95$ olarak bulundu. Bu durum karşılaştırılan iki ölçüm yönteminin yüksek korelasyona sahip olduğunu göstermesine rağmen, iki ölçüm arasında iyi bir uyum vardır anlamına gelmediğinden dolayı sonraki adımda Bland-Altman grafiğinden yararlandı.

Bland-Altman analizi için Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntem karşılaştırılması çalışmasına, aglutinasyon (-) örneklerde iki yöntemden elde edilen ölçümlerin ortalamalarına karşı farkların saçılım grafiğinin çizilmesi ile başlandı. Şekil 4.29'da belirtildiği gibi ortaya çıkan grafikte y eksenini Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ölçümlerinin arasındaki farkı, x eksenini ise iki yöntem arasındaki ölçümlerin ortalamasını gösterdi. Ayrıca bu grafikte farkların sistematik olarak 0'dan farklılığına ve farkların ne kadar yaygın olduğuna bakıldı. İki yöntem arasındaki uyumun incelenmesi farkların ortalaması (\bar{d}) ve standart sapma (s) kullanılarak belirlendi. $\bar{d}\pm 1,96s$ uyum sınırı olarak değerlendirildi. Farkların 0'ın etrafında rastgale dağılması ve % 95'inin $\bar{d}\pm 1,96s$ arasında olması farkların normal dağılımı olduğunu gösterdi. Buna göre, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile sperm konsantrasyon ölçümleri aglutinasyon (-) örneklerde karşılaştırıldığında, iki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması (\bar{d}) 18,21 iken standart sapması 25,62 olarak bulundu. %95'i için güven aralığı ($\bar{d}-1,96s$ ile $\bar{d}+1,96s$) 12,88 ile 23,55 arasında tespit edildi. İstatistiksel sonuca göre; aglutinasyon (-) numunelerde, Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 18,21 birim yüksek okuduğu bulundu (Tablo 4.12).



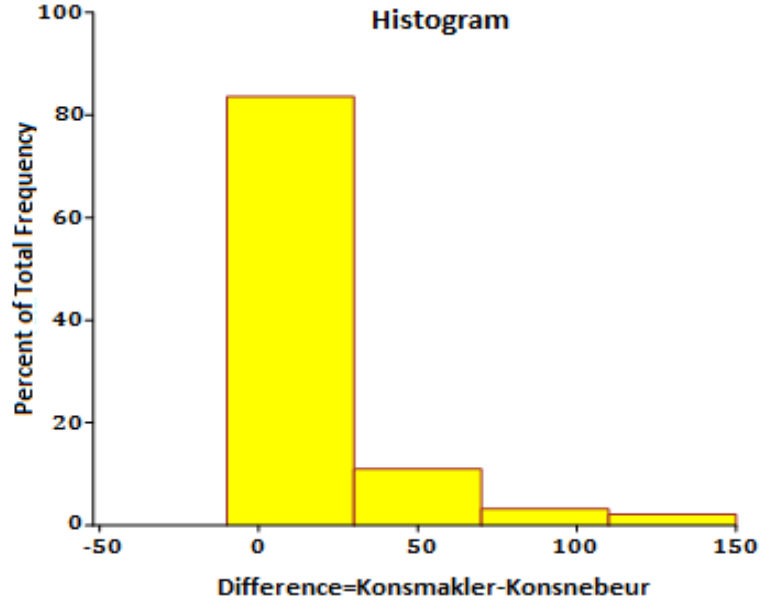
Şekil 4.29. Aglütinasyon (-) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

Tablo 4.12. Aglütinasyon (-) semen örneklerinde iki ölçüme ait \bar{d} ve uyum sınırları. (*=İki ölçüm sonucunun ortalama farkı, *=Çarpma işlemi)

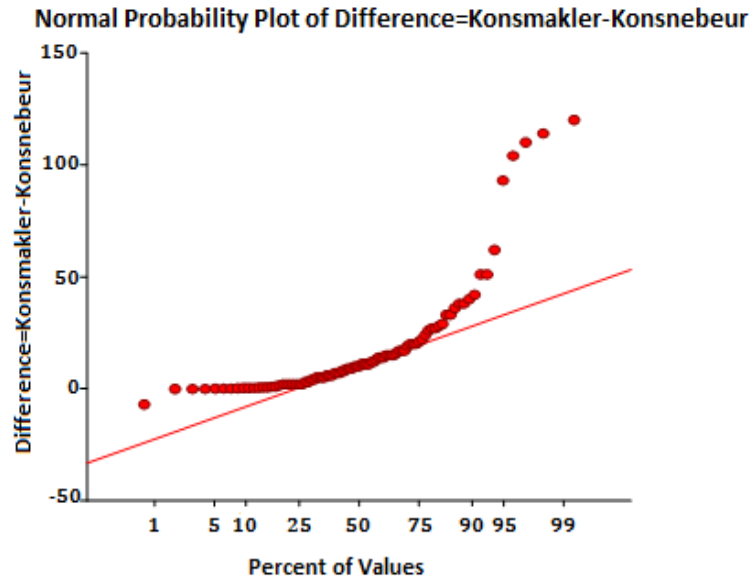
| Metot | N | Ortalama | Standart Sapma | Uyum Sınırları |
|--------------------------------------|----|----------|----------------|-------------------------|
| | | | | $\bar{d} \pm 1,96 * ss$ |
| Makler Kamara | 91 | 54,76 | 57,96 | 42,69 – 66,83 |
| Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre | 91 | 36,54 | 36,26 | 28,99 – 44,10 |
| Ortalama Fark | 91 | * 18,21 | 25,62 | 12,88 – 23,55 |

Ayrıca farkların normal dağılımı histogram çizilerek ve normallik varsayımını sınavan testlerden biri olan Shapiro-Wilk testi kullanılarak doğrulanmaya çalışıldı ($p > 0,05$ düzeyinde anlamlı ise hipotez kabul edildi). $P = 0,68$

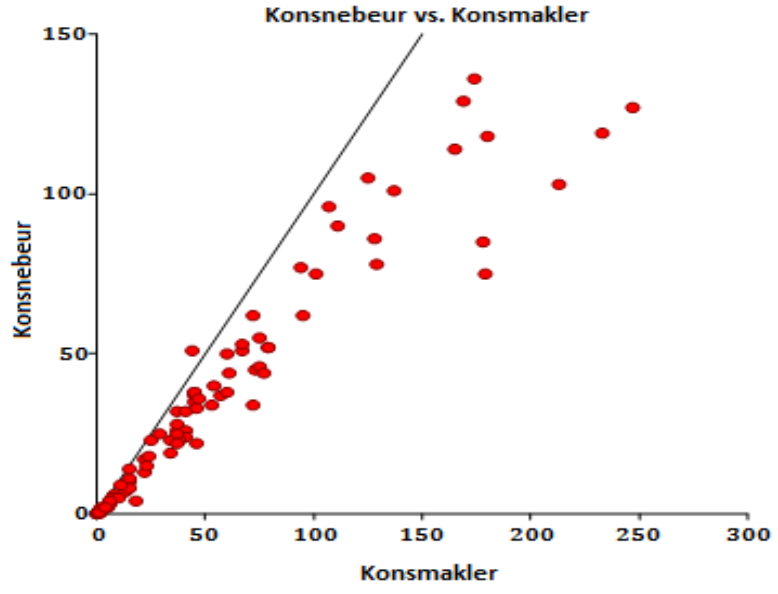
bulundu ve dağılımın normal dağılımda olduğu yorumu yapıldı (Şekil 4.30, 4.31, 4.32).



Şekil 4.30. Aglütinasyon (-) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).



Şekil 4.31. Aglütinasyon (-) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına ilişkin fark grafiği.



Şekil 4.32. Aglütinasyon (-) semen örneklerinde Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ortalama değerler grafiği.

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasının amacı; bir androloji laboratuvarı ortamında sperm konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılan 2 farklı yöntemin birbirinin yerine kullanılabilir olup olmadığının belirlenmesidir. Makler kamara ile elde edilen sperm konsantrasyon ölçümlerinin doğruluğunu değerlendirmek için, ESHRE'nin belirlemiş olduğu standart prosedüre göre Geliştirilmiş Neubauer hemositometre kullanılarak ölçülen konsantrasyon değerleri ile karşılaştırıldı. Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar birbiri ile pozitif korelasyon göstermesine rağmen, iki ölçüm arasındaki farklar Bland-Altman analizi ile daha iyi görüldü ($r=0,97$). Bu analize göre; ortalama fark 22,03 birim olarak tanımlandı. İstatistiksel olarak, Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 22,03 birim daha yüksek okuduğu sonucuna varıldı. Bu bulgu Makler kamaranın yüksek sperm konsantrasyonu ölçtüğü sonucunu bulan daha önceki çalışmaları desteklemektedir (Ginsburg ve Armont, 1990; Sukcharoen ve ark., 1994; Seaman ve ark., 1996; Coetzee ve Menkveld, 2001; Lu ve ark., 2004).

Bailey ve ark. (2007) sperm konsantrasyonun belirlenmesinde kullanılan Makler kamara, Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ve Leja slaytı yöntemlerinin karşılaştırmasını Bland-Altman analizi ile değerlendirmiş olup; 3 yöntem arasında iyi bir korelasyon göstermiştir. Aynı zamanda Geliştirilmiş Neubauer hemositometreyi altın standart olarak kabul edip, Leja slayt ile elde ettiği sonuçları, hemositometre ile elde edilenlerden ortalama % 17 daha düşük, Makler kamara sonuçlarını ise ortalama % 32 daha fazla bulmuştur. Ayrıca çalışmaya katılan hastaları; sperm konsantrasyonu < 20 milyon/ml ise oligospermik, ≥ 20 milyon/ml ise normal referans aralığında kategorize ederek, sayma yöntemlerinin hasta teşhisine olan etkisini incelemiştir. 3 metot arasındaki farkları, özellikle Makler kamara için sperm konsantrasyonu arttıkça artmaktadır şeklinde sonuçlandırmış, Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ve Makler kamaranın çok düşük sperm konsantrasyonlarında en yakın uyumu olduğunu bulmuştur. Bizde bu çalışma ışığında, sperm konsantrasyonlarını ESHRE'nin belirlemiş olduğu referans aralığına göre; 0-10 milyon/ml ise patolojik,

10-20 milyon/ml ise sınır değeri ve ≥ 20 milyon/ml ise normal olarak gruplandırdık. 0-10 milyon/ml aralığındaki iki sayım yöntemi arasındaki uyum incelendiğinde, Makler kamaranın 2,20 birim yüksek okuduğu bulundu. 10-20 milyon/ml aralığındaki uyum incelendiğinde Makler kamaranın 6,62 birim yüksek okuduğu ve son olarak ≥ 20 milyon/ml aralığındaki uyum incelendiğinde 32,64 birim yüksek okuduğu bulundu. Bu sonuçla, bir önceki çalışmada bulunan sperm konsantrasyonu arttıkça iki metot arasındaki ortalama fark artar sonucu desteklendi. Bununla birlikte 0-10 milyon/ml arasındaki ölçümler için 2,20 birimlik fark önemliyken, bu değeri ≥ 20 milyon/ml için anlamlı olmamaktadır. Bu nedenle belirtilen referanslarda iki ölçümün ortalama sonuçları ayrı ayrı belirtilerek, aynı referans aralığında birbirinin ortalama kaç katı ölçüm yaptıklarına bakıldı. Makler kamara 0-10, 10-20 ve ≥ 20 milyon/ml referans aralıklarında sırasıyla ortalama 4,83, 21,25 ve 104,0 birim ölçüm yaptı. Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ise aynı referans aralıklarında sırasıyla ortalama 2,63, 14,62 ve 71,36 birim ölçüm yaptı. Buna göre Makler kamara 0-10 milyon/ml aralığında Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 1,84 kat, 10-20 milyon/ml aralığında 1,45 kat, ≥ 20 milyon/ml aralığında 1,46 kat daha yüksek okudu. Sonuç olarak en düşük referans aralığı olan 0-10 milyon/ml'de Makler kamara hemositometrenin yaklaşık iki katı kadar fazla ölçüm yaptı ve Bailey ve ark.'larının çalışmasında çok düşük sperm konsantrasyonlarında en yakın uyum vardır sonucuna aksi bir sonuç bulundu. Bu çalışmaya benzer bir çalışma Sukcharoen ve ark. (1994) yılında yapılmış olup, Makler kamara ile elde edilen sperm konsantrasyonları, 40 milyon/ml üzerindeki konsantrasyonlarda hemositometreye göre istatistiksel olarak farklı değildi. 40 milyon/ml'den daha düşük olan semen örneklerde ise aşırı tahmin edilen bir değişime neden oldu.

Sperm konsantrasyonlarını analiz etmek için farklı metodolojilerin kullanılması, laboratuvarlar arasındaki sperm sayısındaki değişimin başlıca nedenidir (Auger ve ark., 2000). Laboratuvarlar arasındaki anlaşmazlıklar nedeni ile bir hasta normal, diğerinde ise patolojik olarak sınıflandırılabilir (Neuwinger ve ark.,1990). Bu da bazı olumsuz psikososyal etkilere neden olabilir ve bazı bireylerin gebelik elde etmek için uygun yardımı alamayacağı anlamına gelir. Bu çalışmanın bulgularına göre; Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre yüksek okuma eğiliminden dolayı n=100 hastanın 6'sı Makler kamara ile sınır değeri tanımlanmışken, Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre patolojik, 5'i ise Makler

kamaraya göre normal tanısı almışken, Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre sınır değer tanısı almıştır. Bu popülasyonda ki 100 hastadan 11 tanesinde tanı açıkça kullanılan sayım yöntemine bağlıdır. Böylelikle farklı sayım yöntemlerinin kullanılması, genel tanıyı etkileme potansiyeline sahip olduğu çalışmamızla desteklenmiştir.

Semen analizi, özellikle de sperm sayısı erkek fertilité potansiyelinin değerlendirilmesi için temel testtir. Öneme rağmen sperm sayımını gerçekleştirmek için kullanılan farklı sayım metotlarının doğruluğu ve güvenilirliği hakkında çok az şey bilinmektedir. İlk yapılan çalışmalar farklı sayım odalarının doğruluğunu karşılaştırmak için semen örnekleri kullandı. Ancak maalesef standart bir çözüm kullanmadığı için verilerin yorumlanması zordu. Bilinen konsantrasyon partikülleri içeren ticari olarak bulunan çözeltiler, sayma işlemlerinin doğruluğunu ve güvenilirliğini arttırmak amacı ile laboratuvarların kalite kontrolünde kullanılmak üzere piyasaya sürülmüştür. Peters ve ark. (1993)'te sperm sayımında kalite güvencesi için semen içine eklenen lateks boncuklarının kullanımı hakkında rapor etti. Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile gerçekleştirilen sperm sayımları arasında istatistiksel olarak önemli bir tutarsızlık olduğunu gözlemlediler. Ortalama Makler sperm konsantrasyonlarının, ortalama hemositometre ölçümlerine göre 1,6 kat daha fazla olduğunu buldular. Bu çalışma ile bilinen bir konsantrasyona sahip lateks boncuk içeren ticari olarak temin edilen bir solüsyonla sayım metotlarının doğruluğu değerlendirilmekte, ayrıca semenin viskozite, aglütinasyon ve olgunlaşmamış formların varlığı gibi semen yoğunluğundaki değişiklikler sayım farklılıklarına neden olabileceği için, olası hata kaynaklarında ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır.

Bu tez çalışmasında; Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile elde edilen ölçüm sonucunu karşılaştırırken, ayrıca semen yoğunluğunu değiştirebilecek özelliklerden olan viskozitesi ve aglütinasyon varlığını da değerlendirerek, iki sayım metodu arasındaki uyuma etkilerini inceledik. Makler kamara Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre visküz özellikteki semende 24,77 birim yüksek, visküz olmayan semende ise 21,07 birim yüksek, aglütinasyon (+) olan semende 60,67 birim yüksek, aglütinasyon (-) semende ise 18,21 birim yüksek ölçtüğü sonucuna varıldı. Özellikle aglütinasyon varlığının iki metot

arasındaki ölçüm sonuçlarını etkilediği ortaya konuldu. Ancak bu konuda daha önce yapılmış bir çalışma olmadığı için uyum karşılaştırması yetersiz kaldı.

Önceki araştırmalardan, kullanılan birçok yöntemin hata derecesine sahip olduğunu biliyoruz. Semen doğal viskozitesi ve heterojenitesi, eksik karışım, pipetleme hataları, matematiksel hatalar bunlar arasında sayılabilir. Başka bir hata kaynağı ve muhtemelen en önemli olanı örnekleme hatasıdır. Doğası gereği 1 μ l semen sıvısı, diğerine kıyasla çok farklı niteliklere sahip olabilir. Bu nedenle daha iyi karıştırma, daha fazla sayıda örnekleme ve analiz başına sayılan sperm sayısını arttırma ile mevcut hassasiyet iyileştirilebilir. Ayrıca bazı literatürle uygun olup, bazıları ile çelişen bu tez çalışmasından daha güvenilir sonuçlar elde etmek için örnek sayısının arttırılması ve her metotun kendi içinde tekrarlanması da yararlı olacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, Balıkesir Üniversitesi Sağlık ve Uygulama Hastanesi Androloji laboratuvarına rutin semen analizi için gelen gönüllü hastalar kullanılmıştır. Hastaların ilgili analizi yapıldıktan sonra geriye kalan numune ile Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemleri kullanılarak sperm konsantrasyonları hesaplanmıştır. Bununla birlikte tüm hasta örnekleri viskozite ve aglütinasyon durumu, konsantrasyonun 0-10 (patolojik), 10-20 (sınır değer) ve ≥ 20 milyon/ml (normal) referans değerlerine göre alt gruplarına ayrılarak, incelenmiştir.

Elde edilen verilerin birbirleri ile ilişkili olup olmadığını ve ne kadar güçlü olduğunu gösterebilmek için istatistiksel bir teknik olan korelasyon katsayısı (r) kullanılmıştır. Korelasyon analizi sonucunda, bütün gruplarda karşılaştırılan iki yöntem arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Korelasyon iki değişken arasındaki doğrusal ilişkiyi tanımlarken, aralarındaki uyumu belirtmez. Bu sebeple yüksek korelasyon olması iki yöntem arasında iyi bir uyum olduğunun kanıtı değildir. Korelasyon katsayısının yetersiz kalışı ve iki yöntem arasındaki uyumu değerlendirirken yanıltıcı olabileceği bilindiği için Bland-Altman analizi kullanılmıştır. Bland-Altman analizi, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerinden elde edilen veriler farkının, ortalamalarına karşı çizilen bir saçılım grafiğidir. Ortalamaya karşı fark grafiği çizmek, ölçüm hatası ile gerçek değer arasındaki muhtemel ilişkiyi araştırmamıza yardımcı olur.

Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemleri n=100 hastada karşılaştırıldığında, Makler kamara ortalama 69,61birim ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ortalama 47,58 birim olarak bulunmuştur. İki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması 22,03 olarak tespit edilmiştir. Buna göre Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 22,03 birim yüksek okuduğu hesaplanmıştır.

Sperm konsantrasyonlarını analiz etmek için farklı yöntemlerin kullanılması, laboratuvarlar arasındaki veri farklılığının başlıca nedenidir. Bu farklılıklar sebebi ile bir laboratuvar sonucuna göre normal olarak değerlendirilen hasta, bir diğerinde infertil olarak sınıflandırılabilir. Bu çalışmada, Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre arasındaki sperm konsantrasyonu uyumsuzlukları 11 hastanın teşhisini etkilemiştir. Bu çalışmanın bulgularına göre; Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre yüksek okuma eğiliminden dolayı, 100 hastanın 6'sı Makler kamara ile sınır değer (10-20 milyon/ml) tanısı almışken, Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre patolojik (0-10 milyon/ml), 5'i ise Makler kamaraya göre normal (≥ 20 milyon/ml) tanısı almışken, Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre sınır değer (10-20 milyon/ml) tanısı almıştır. Bu tür hatalı teşhisleri ortadan kaldırabilmek için belirtilen referans aralıklarında iki yöntemin birbirine uyumunu inceledik. Buna göre; 0-10 milyon/ml referans aralığında bulunan n=28 hasta karşılaştırıldığında, Makler kamara ortalama 4,83 birim ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ortalama 2,63 olarak bulunmuştur. İki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması 2,20 olarak tespit edilmiştir. Buna göre Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 0-10 milyon/ml referans aralığında, ortalama 2,20 birim yüksek okuduğu hesaplanmıştır. 10-20 milyon/ml referans aralığında bulunan n=8 hasta karşılaştırıldığında, Makler kamara ortalama 21,25 birim ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ortalama 14,62 olarak bulunmuştur. İki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması 6,62 olarak tespit edilmiştir. Buna göre Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 10-20 milyon/ml referans aralığında, ortalama 6,62 birim yüksek okuduğu hesaplanmıştır. Son olarak ≥ 20 milyon/ml referans aralığında bulunan n=64 hasta karşılaştırıldığında, Makler kamara ortalama 104,0 birim ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ortalama 71,36 olarak bulunmuştur. İki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması 32,64 olarak tespit edilmiştir. Buna göre Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre ≥ 20 milyon/ml referans aralığında, ortalama 32,64 birim yüksek okuduğu hesaplanmıştır. Ayrıca 2,20 birimlik fark 0-10 birimlik ölçüm için önemliyken, ≥ 20 birimlik bir ölçümde anlamlı olmayacaktır. Bu nedenle belirtilen referanslarda iki ölçümün ortalama sonuçları ayrı ayrı belirtilerek, aynı referans aralığında birbirinin ortalama kaç katı ölçüm yaptıklarına bakılmıştır. Buna göre Makler kamara 0-10 milyon/ml aralığında Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 1,84 kat, 10-20 milyon/ml

aralığında 1,45 kat, ≥ 20 milyon/ml aralığında 1,46 kat daha yüksek okumuştur. Sonuç olarak en düşük referans aralığı olan 0-10 milyon/ml'de Makler kamara hemositometrenin yaklaşık iki katı kadar fazla ölçüm yapmıştır ve özellikle düşük konsantrasyonlarda Makler kamara kullanımının aşırı tahmin edilen bir değişime neden olduğu dikkate alınmalıdır.

Ayrıca sperm konsantrasyonu belirlerken, semen örneklerinde viskozite değişiklikleri veya sperm kümeleşmesi gibi sperm yoğunluğundaki değişiklikler de olası hata kaynaklarının nedenlerindedir. Karşılaştırılan iki yöntemin bu şartlar altında birbirine uyumunu incelemek için hasta numunelerini viskozite ve aglütinasyon durumuna göre alt gruplara ayırarak olası hata kaynaklarını ortadan kaldırmaya çalıştık. Buna göre; viskozitesi (+) olan n=26 hasta karşılaştırıldığında, Makler kamara ortalama 60,92 birim ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ortalama 36,15 olarak bulunmuştur. İki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması 24,77 olarak tespit edilmiş ve Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 24,77 birim yüksek okuduğu hesaplanmıştır. Viskozitesi (-) olan n=74 hasta karşılaştırıldığında, Makler kamara ortalama 72,66 birim ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ortalama 51,59 olarak bulunmuştur. İki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması 21,07 olarak tespit edilmiş ve Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 21,07 birim yüksek okuduğu hesaplanmıştır. Aglütinasyon (+) olan n=9 hasta karşılaştırıldığında, Makler kamara ortalama 219,78 birim ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ortalama 159,11 olarak bulunmuştur. İki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması 60,67 olarak tespit edilmiş ve Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 60,67 birim yüksek okuduğu hesaplanmıştır. Son olarak aglütinasyon (-) olan n=91 hasta karşılaştırıldığında, Makler kamara ortalama 54,76 birim ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ortalama 36,54 olarak bulunmuştur. İki yöntem arasındaki uyum farklarının ortalaması 18,21 olarak tespit edilmiş ve Makler kamaranın Geliştirilmiş Neubauer hemositometreye göre 18,21 birim yüksek okuduğu hesaplanmıştır. Ancak bu konuda daha önce yapılmış bir çalışma olmadığı için uyum karşılaştırması yetersiz kalmıştır.

Çalışmamızda karşılaştırılan iki yöntemin bilinen gerçek bir değeri yoktu. Bizde Bland-Altman analizi ile gerçek değere en yakın olduğu düşünülen iki ölçümün ortalamasını kullanarak, metot uyumunu ölçmeye çalıştık. Sonuç olarak Makler kamara her koşulda yüksek okuma eğilimi göstermiştir. Tek bir gözlemcinin aynı koşullar altında aynı yöntemi kullanarak tekrarlanan ölçümler yapıldığında da aynı sonucu elde edebildiğini göstermek önemlidir. Bu nedenle daha güvenilir sonuçlar elde etmek için örnek sayısının artırılması ve her metotun kendi içinde tekrarlanması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

Abnormal Sperm,

<http://fertilitysolutions.com.au/so-your-sperm-morphology-is-low-should-you-be-worried/>

18.09.2017

Aitken RJ. Diagnostic value of the zona-free hamster oocyte penetration test and sperm movement characteristics in oligozoospermia. *Int J Androl*, 1985, 8:348.

Aitken RJ, Buckingham DW, Fang HG. Analysis of the responses of human spermatozoa to A23187 employing a novel technique for assessing the acrosome reaction, *J Androl*, 1993, 14:132.

Aktan G. WHO-2010 kriterlerine göre semen parametreleri neler deðiřti?. Uroturk, doğu_anadolu_mayıs_sunum_pdf, 2011.

Aktaş H. Derin Teratozoosperminin ICSI'de Gebelik Sonuçları Üzerindeki Etkisi. Sağlık Bakanlığı, Süleymaniye Kadın Hastalıkları ve Doğum Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2007.

Amann RP, Graham JK. Spermatozoal function. In: McKinnon AO, Voss JL (eds). *Equine Reproduction*. Philadelphia, PA, Lea&Febiger, 1993:715-745.

Anderson S, Bankier AT, Barrell BG. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 1981, 290:457-465.

Arıncı K, Elhan A. *Anatomi*, 3. Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi, 2001:56.

Arslan M, Oehninger S, Kruger TF. Clinical management of male infertility. In: Oehninger S, Kruger TF (eds). *Male Infertility: Diagnosis and Treatment*. Informa Health Care, London, 2006: 305-318.

Atal S. Erişkin Erkek Sıçanlarda Metotreksat Kaynaklı Testis Hasarında Kurkuminin Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, 2014.

Auger J, Eustache F, Ducot B, Blandin T, Daudin M, Diaz I, et al. Intra- and inter-individual variability in human sperm concentration, motility and vitality assessment during a workshop involving ten laboratories. *Hum Reprod*, 2000, 15:2360–2368.

Auger J, Eustache F, Andersen AG, Irvine DS, Jørgensen N, Skakkebaek NE. Sperm morphological defects related to environment, lifestyle and medical history of 1001 male partners of pregnant women from four European cities. *Hum Reprod*, 2001, 16:2710–2717.

Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *New England Journal of Medicine*, 1995, 332(5):281-285.

Aydos K. Erkek infertilitesi. İçinde: Anafarta K, Bedük Y, Arkan N (editörler). *Temel Üroloji Kitabı*, Üçüncü baskı. Güneş Tıp Kitabevi, Ankara. 2007:989.

Ayvaliotis B, Bronson R, Rosenfeld D, Cooper G. Conception rates in couples where autoimmunity to sperm is detected. *Fertil Steril*, 1985, 43:739.

Bailey E, Fenning N, Chamberlain S, Devlin L, Hopkisson J, Tomlinson M. Validation of Sperm Counting Methods Using Limits of Agreement. *J. Androl*, 2007, 28(3):364-373.

Birks AG, Izzard H, Morroll DR, Prior JR, Troup SA. The routine assessment of sperm motility at room temperature and 37 degrees C. *Int J Androl*, 1994, 17:289-291.

Bland MJ, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 1986,1:307–310.

Bonde JP, Ernst E, Jensen TK, Hjollund NH, Kolstad H, Henriksen TB, Scheike T, Giwercman A, Olsen J, Skakkebaek NE. Relation between semen quality and fertility: a population-based study of 430 first pregnancy planners. *Lancet*, 1988, 352(9135):1172–1177.

Brehm R, Steger K. *Regulation of Sertoli Cell and Germ Cell Differentiation*. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 2005:1-10.

Carlson BM. *Human Embryology and Developmental Biology*. Fourth Edition. Mosby Elsevier, Philadelphia, 2009.

Casper RF, Meriano JS, Jarvi KA, Cowen L, Lucato ML. The hypoosmotic swelling test for selection of viable sperm for intracytoplasmic sperm injection in men with complete asthenozoospermia. *Fertil Steril*, 1996, 65:972.

Chiles KA, Schlegel PN. What do Semen Parameters Mean? How to Define a Normal Semen Analysis. *Arch Andrology*, 2015, 4(2):1-4.

Coetzee K, Menkveld R. Validation of a new disposable counting chamber. *Arch Androl*, 2001, 47:153–156.

Cooper TG. Epididymis. In: Neill JD, Knobil E (eds). *Encyclopedia of reproduction*. Academic, San Diego, CA, 1998:1-17.

Cooper TG. Semen Analysis. In: Nieschag E, Behre HM, Nieschlag S (eds). *Andrology*, 3rd ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010:125-138.

Cooper TG, Barfield JP, Yeung CH. Changes in osmolality during liquefaction of human semen. *Int J Androl*, 2005, 28:58-60.

Cooper TG, Jockenhovel F, Nieschlag E. Variations in semen parameters from fathers. *Hum Reprod*, 1991, 6:859-866.

Cooper TG, Noonan E, Von Eckardstein S, Auger J, Baker HW, Behre HM. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update*. 2010, 16:231–245.

Cooper TG, Yeung CH. Computer-aided evaluation of assessment of grade a spermatozoa by experienced technicians. *Fertility and Sterility*, 2006, 85:220-224.

Cooper TG, Yeung CH. Physiology of Sperm Maturation and Fertilization. In: Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S (eds). *Andrology*, 3rd ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010:61-85.

Davis RO, Katz DF. Standardization and comparability of CASA instruments. *J Androl*, 1992, 13:81.

Davis RO, Rothmann SA, Overstreet JW. Accuracy and precision of computer-aided sperm analysis in multicenter studies. *Fertil Steril*, 1992, 57:648.

Delilbaşı L. *Tüp Bebek-Yardımcı Üreme Tekniklerinde Laboratuar Yöntemleri*. Bayındır Sağlık, Eğitim ve Araştırma Vakfı, Ankara, 1997:10.

Delilbaşı L. İn vitro fertilizasyon (IVF) laboratuar yöntemleri. Öncü Basımevi, Ankara, 2007.

Delilbaşı L, Balaban B, Ayaş B. Gametler (sperm/oosit) fertilizasyon ve embriyoner gelişim. Serano yayımları, 2000-01.

De Jonge CJ, Barratt C. *The Sperm Cell, Production, Maturation, Fertilization, Regeneration*. Cambridge University Press 2006:1-25.

Demir R. Erkek Üreme Sistemi. İçinde: *diFiore'nin Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle*, Demir R (Çeviri Editörü). *diFiore's Atlas Of Histology With Functional Correlations 12/E*, Eroschenko VP. 12. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2013:477-503.

Dunphy BC, Neal LM, Cooke ID. The clinical value of conventional semen analysis. *Fertil Steril*, 1989; 51:324–329.

Duran EH, Morshedi M, Taylor S, Oehninger S. Sperm DNA quality predicts intrauterine insemination outcome: a prospective cohort study. *Hum Reprod*, 2002, 17:3122.

Duru NK. *Subfertil ve İnfertil Sperm Parametreleri*. GATA Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Notları Ankara, 1998.

Eacker SM, Agrawal N, Qian K, Dichek HL, Gong EY, Lee K, Braun RE. Hormonal regulation of testicular steroid and cholesterol homeostasis. *Mol Endocrinol*, 2008, 22:623-635.

Ekinci N. Erkek Genital Organları (Organa Genitalia Masculina). İçinde: Çelik Ö (editör). *Yardımcı Üreme Teknikleri Temel Klinik ve Embriyolojik Uygulamalar*. Adana, Nobel Kitabevi, 2011:13-25.

Elder K, Dale B. *In Vitro Fertilization*. Second Edition. Cambridge University Press, Cambridge, 2003:3-25.

Elia J, Delfino M, Imbrogno N, Capogreca F, Lucarelli M, Rossi T, Mozzilli F. Human semen hyperviscosity: prevalence, pathogenesis and therapeutic aspects. *Asian J Androl*, 2009, 11:609-615.

Eliasson R. Analysis of semen. In: Behrman SJ, Kistner RW (eds). *Progress in infertility*, 2nd ed. New York, Little, Brown, 1975, 691-713.

Elzanaty S, Malm J, Giwercman A. Visco-elasticity of seminal fluid in relation to the epididymal and accessory sex gland function and its impact on sperm motility. *Int J Androl*, 2004, 27:94-100.

ESHRE Monographs: Manual on Basic Semen Analysis, 2002: 5-9.

Esteves SC, Hornada A, Kondray V, Pitchika A, Agarwal A. What every gynecologist should know about male infertility: an update. *Arch Gynecol Obstet*. 2012, 286:217-229.

Esteves SC, Zini A, Aziz N, Alvarez JG, Sabanegh ES. Critical appraisal of World Health Organization's new reference values for human semen characteristics and effect on diagnosis and treatment of subfertile men. *Urology*, 2010, 79:16-22.

Fernandez JL, Muriel L, Goyanes V, Segrelles E, Gosálvez J, Enciso M, LaFromboise M, De Jonge C. Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test. *Fertil Steril*, 2005, 84(4):833-842.

Flori F, Ermini L, La Sala GB, Nicoli A, Capone A, Focarelli R, Rosati F, Giovampaola CD. The GPI-anchored CD52 antigen of the sperm surface interacts with semenogelin and participates in clot formation and liquefaction of human semen. *Mol Reprod Dev*, 2008, 75:326-335.

Ford WC. World Health Organization (WHO) laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th edition. 2010:56-63.

Gadea J, Parrington J, Kashir J, Coward K. The male reproductive tract and spermatogenesis. In: Coward K, Wells D (eds). *Textbook of Clinical Embryology*. Cambridge University Press, 2013:18-26.

Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology*. 3rd ed, Saunders Elsevier, 2006:490-500.

Gatewood JM, Cook GR, Balhorn R. Sequence-specific packaging of DNA in human sperm chromatin. *Science*, 1987, 236:962-964.

Giezerman M, Bartoov B. Semen Analysis. In: Insler V & Lunenfeldi B (eds). *Infertility: Male and Female*. Churchill Livingstone, 1986:243.

Gineitis AA, Zalenskaya IA, Yau PM. Human sperm telomere-binding complex involves histone H2B and secures telomere membrane attachment. *J Cell Biol*, 2000, 151:1591-1598.

Ginsburg KA, Armont DR. The influence of chamber characteristics on the reliability of sperm concentration and movement measurements obtained by manual and videomicrographic analysis. *Fertil Steril*, 1990, 53:882-887.

Gonzales GF. Function of seminal vesicles and their role on male fertility. *Asian J Androl*, 2001, 34(3):251-258.

Gonzales GF, Kortebani G, Mazzolli AB. Hyperviscosity and hypofunction of the seminal vesicles. *Arch Androl*, 1993, 30:63-68.

Graaff VD. Male Reproductive System. In: Graaff VD (ed). *Human Anatomy*, 6th ed. The McGraw-Hill Companies, 2001:698-724.

Gopalkrishnan K, Padwal V, Balaiah D. Does seminal fluid viscosity influence sperm chromatin integrity?. *Arch Androl*, 2000, 45:99-103.

Gupta GS. *Proteomics of Spermatogenesis*. Springer Science, Business Media, 2005:3-13.

Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, Carson SA, Cisnero P, Steinkampf MP, Hill JA, Xu D, Vogel DL. National Cooperative Reproductive Medicine Network. Sperm morphology, motility and concentration in fertile and infertile men. *New Eng J Med*, 2001, 345:1388– 1393.

Güenalp S. Erkek İnfertilitesi. İçinde: Ayhan A, Durukan T, Güenalp S, Gürkan T, Önderoğlu LS, Yaralı H, Yüce K (editörler). *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*, 2. Baskı. Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2008:1595-1615.

Handelsman DJ, Conway AJ, Boylan IM, Turtle JR. Testiküler function in potential sperm donors: normal ranges and the effects of smoking and varicocele. *International Journal of Andrology*, 1984, 7:369-382.

Haugen TB, Egeland T, Magnus O. Semen parameters in Norwegian fertile men. *J Androl*. 2006, 27:66-71.

Imade GE, Towobola OA, Sagay AS, Otubu JA. Discrepancies in sperm count using improved Neubauer, Makler, and Horwells counting chambers *Arch Andro*, 1993, 31(1):17-22.

Irvine DS, Twigg JP, Gordon EL, Fulton N, Milne PA, Aitken RJ. DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality. *J Androl*, 2000, 21:33.

Işık AZ, Vicdan K. *İn Vitro Fertilizasyon Uygulamalarında Laboratuvar*. Çağdaş Medikal, Ankara, 1999:92-94.

İrez T, Erhan M. Fertilizasyon Öncesi Olaylar. İçinde: *BRS Embriyoloji*, İrez T, Erkan M (Çeviri editörleri). *BRS: Embryology*, Dudek RW. 6.baskı, İstanbul, Ekspres Basımevi, 2016:1-11.

Johnson JE, Boone WR, Blockhurst DW. Manual versus computer-automated semen analysis. Part I. Comparison of counting chambers. *Fertil Steril*, 1996, 65:150-155.

Johnson JE, Boone WR, Blockhurst DW. Manual versus computer-automated semen analyses. Part III. Comparison of old versus new design microcell chambers. *Fertil Steril*, 1996, 65:446-447.

Johnson L, Varner DD. Effect of daily sperm production but not age on transit time of spermatozoa through the human epididymis. *Biol Reprod*, 1988, 39:812-817.

Jonsson M, Linse S, Forhm B, Lundwall A, Malm J. Semenogelins I and II bind zinc and regulate the activity of prostate-specific antigen. *Biochem J*, 2005, 387:47-453.

Kao SH, Chao HT, Wei YH. Multiple deletions of mitochondrial DNA are associated with the decline of motility and fertility of human spermatozoa. *Mol Hum Reprod*, 1998, 4:657-666.

Kayıkcı MA, Çam HK, Akman Y, Erol A. Erkek infertilitesini değerlendirmede semen analizinin özellikleri ve rolü. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 2002, 4:35-38.

Kosewer NS, Katayose H, Yanagimachi R. Thiol-disulfide status and acridine orange fluorescence of mammalian sperm nuclei. *J Androl*, 1992, 13:342-348.

Kraemer M, Fillion C, Martin-Pont B, Auger J. Factors influencing human sperm kinematic measurements by the Celltrak computer-assisted sperm analysis system. *Human Reproduction*, 1998, 13(3):611-619.

Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson RJ. Predictive value of abnormal sperm morphology in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 1988, 49:112-117.

Kumar VL, Majumder PK. Prostate gland: structure, functions and regulation. *Int Urol Nephrol*, 1995, 27(3):231-243.

Larsen L, Scheike T, Jensen TK, Bonde TK, Ernst E, Hjollund NH, Zhou Y, Skakkebaek NE, Giwercman A. Computer-assisted semen analysis parameters as predictors for fertility of men from the general population. The Danish First Pregnancy Study Team. *Human Reproduction*, 2000, 15(7):1562-1567.

Le Lannou D, Griveau JF, Le Pichon JP, Quero JC. Effects of chamber depth on the motion pattern of human spermatozoa in semen or in capacitating medium. *Human Reproduction*, 1992, 7(10):1417-1421.

Lei ZM, Mishra S, Zou W, Xu M, Foltz M, Li X, Rao CV. Targeted disruption of luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin receptor gene. *Mol Endocrinol*, 2001, 15:184-200.

Lu JC, Lu NQ, Huang YF, et al. Quality evaluation of three different sperm counting chambers. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 2004, 10:755–760.

Makler A. A new chamber for rapid sperm count and motility estimation. *Fertil Steril*, 1978, 30:313-318.

Mankad M, Sathawara NG, Doshi H, Saiyed HN, Kumar S. Seminal plazma zinc concentration and alpha-glucosidase activity with respect to semen quality. *Biol Trace Elem Res*, 2006, 110:97-106.

Memorial Şişli Tüp Bebek Merkezi,

<http://www.tupbebek-genetik.com/laboratuvar-yontemleri/androloji-laboratuvari>

18.09.2017.

Mendeluk GR, Munuce MJ, Carizzo C, Sardi M, Bregni C. Sperm motility and ATP content in seminal hyperviscosity. *Arch Androl*, 1997, 39:223-227.

Menkveld R, Wong WY, Lombard CJ, Wetzels AM, Thomas CM, Merkus HM, Steegers-Theunissen RP. Semen parameters, including WHO and strict criteria morphology, in a fertile and subfertile population: an effort towards standardization of in-vivo thresholds. *Human Reproduction*, 2001. 16(6):1165-1171.

Moore HD. Contribution of epididymal factors to sperm maturation and storage. *Andrologia*, 1998, 30(4-5):233-239.

Mortimer D, Menkveld R. Sperm morphology assessment historical perspectives and current opinions. *Journal of Andrology*, 2001, 22(2):192-205.

Mortimer D, Shu MA, Tan R. Standardization and quality control of sperm concentration and sperm motility amounts in semen analysis. *Hum Reprod*, 1986, 1:299-303.

Mortimer D, Templeton AA, Lenton EA, Coleman RA. Influence of abstinence and ejaculation-to-analysis delay on semen analysis parameters of suspected infertile men. *Arch Androl*, 1982, 8:251-256.

Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and Infertility in the United States: Incidence and trends, *Fertil Steril*, 1991, 56:192-193.

Neuwinger J, Behre HM, Nieschlag E. External quality control in the andrology laboratory: an experimental multicenter trial. *Fertil Steril*, 1990, 54:308–314.

Niederberger C. Semen analysis: are 2 counts truly beter than? *J Androl*, 2004, 25:19-21.

Nieschlag E, Weinbauer GF, Cooper TG, Wittkowski W, Cantz T. Reproduktion. In: Speckmann EJ, Hescheler J, Köhling R (eds). *Physiologie*, 5. Auflage. Urban & Fischer, München, 2008:652-677.

Ombelet W, Vandeput H, Janssen M, Cox A, Vossen C, Pollet H, Steeno O, Bosmans E. Treatment of male infertility due to sperm surface antibodies: IUI or IVF?. *Hum Reprod*, 1997,12:1165.

Örmen M, Önvural B. Semene klinik biyokimyasal yaklaşım. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2003, 3:155-161.

Özdener H. Semen Analizi: Morfolojik Yaklaşım. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 1993, 13(5):408-417.

Peters AJ, Zaneveld LJD, Jeyendran RS. Quality assurance for sperm concentration using latex beads. *Fertil Steril*, 1993, 60:702-705.

Pomerol JM. Primera vista del varan infertil y valoracion clinica del seminograma. *Practica Andrologica*, 1994:33.

Rodin DM, Larone D, Goldstein M. Relationship between semen cultures, leukospermia and semen analysis in men undergoing fertility evaluation. *Fertil Steril*, 2003, 8:1555-1558.

Rogers BJ, Perreault SD, Bentwood BJ, McCarville C, Hale RW, Soderdahl DW. Variability in the human-hamster in vitro assay for fertility evaluation. *Fertil Steril*, 1983, 39:204.

Rogers K. Anatomy Of The Human Reproductive System. In: Rogers K (ed). *The Reproductive System*, 1st ed. New York, Britannica Educational Publishing in association with Rosen Educational Services, 2011:19-38.

Rossi T, Grandoni F, Mozzilli F, Quattrucci S, Antonelli M, Strom R, Lucarelli M. High frequency of (TG) mTn variant tracts in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene in men with high semen viscosity. *Arch Androl*, 1997, 39:223-227.

Rothmann SA, Reese AA. Semen analysis. In: Lipshultz LI, Howards SS, Niederberger CS (eds). *Infertility in the Male*, 4th edition. Published by Cambridge University Press 2009, 33:550-573

Sadler TW. *Langman's Medical Embryology*, 10th ed. Lippincott Williams Wilkins, 2006:25-28.

Sancak B, Cumhuri M. *Fonksiyonel Anatomi Baş-Boyun ve İç Organlar*, 4. Baskı. Ankara, ODTÜ Yayıncılık, 2008:384.

Sargın SY, Arpalı E. Spermatogenez. İçinde: Çelik O (editor). *Yardımcı Üreme Teknikleri Temel Klinik ve Embriyolojik Uygulamalar*. Adana, Nobel Kitabevi, 2011:57-63.

Schlegel PN, Hardy MP, Goldstein M. Male Reproductive Physiology. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA (eds). *Campbell-Walsh Urology*, 9th ed. Saunders Elsevier, 2007: 581-600.

Seaman KE, Goluboff E, Barchoma N, Fisch H. Accuracy of semen counting chambers as determined by the use of latex beads. *Fertil and Steril*, 1996, 4(66):662-665.

Sharlip ID, Jarow JP, Belker AM, Lipshultz LI, Sigman M, Thomas AJ, Schlegel PN, Howards SS, Nehra A, Damewood MD, Overstreet JW, Sadovsky R. Best practice policies for male infertility. *Fertil Steril*, 2002, 77:873.

Shedding Light on the Nature of Seminal Round Cells,

<http://www.journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0151640>

17.09.2017.

Shiran E, Stoller J, Blumenfeld Z, Feigin PD, Makler A. Evaluating the accuracy of different sperm counting chambers by performing strict counts of photographed beads. *J Assist Reprod Genet*, 1995,12(7):434-442.

Slama R, Eustache F, Ducot B, Jensen TK, Jørgensen N, Horte A, Irvine S, Suominen J, Andersen AG, Auger J, Vierula M, Toppari J, Andersen AN, Keiding N, Skakkebaek NE, Spira A, Jouannet P. Time to pregnancy and semen parameters: a cross-sectional study among fertile couples from four European cities. *Human Reproduction*, 2002, 17(2):503-515.

Smith RG, Johnson A, Lamb D, Lipshultz LI. Functional tests of spermatozoa. Sperm penetration assay. *Urol Clin North Am*, 1987, 14:451.

Sofikitis N, Giotitsas N, Tsounapi P, Baltogiannis D, Giannakis D, Pardalidis N. Hormonal regulation of spermatogenesis and spermiogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2008, 109(3-5):323-330.

Spira A. Epidemiology of human reproduction. *Hum Reprod*, 1986, 1(2):111-115.

Speroff L, Fritz MA. Male infertility, Chapter 30. In: *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, Eighth Edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2010:1266.

Sriraman V, Anbalagan M, Rao AJ. *Hormonal regulation of Leydig cell proliferation and differentiation in rodent testis: A dynamic interplay between gonadotrophins and testicular factors*. *Reprod Biomed Online*, 2005, 11:507-518.

Stewart TM, Liu DY, Garrett C, Jorgensen N, Brown EH. Associations between andrological measures, hormones and semen quality in fertile Australian men: inverse relationship between obesity and sperm output. *Hum Reprod*, 2009, 24:1561-1568.

Sukcharoen N, Ngeamjirawat J, Chanprasit Y, Aribarg A. A comparison of Makler counting chamber and improved Neubauer hemocytometer in sperm concentration measurement. *Journal of the Medical Association of Thailand=Chotmaihet thangphaet*, 1994, 77:471-476.

Sunderman WF, Boerner F. Seminal fluid. In: *Normal Values in Clinical Medicine*, First ed. WB Saunders Company 1950:385.

Swan SH, Brazil C, Drobnis EZ, Liu F, Kruse RL, Hatch M. Geographic differences in semen quality of fertile U.S. males. *Environ Health Perspect*. 2003, 111:414-420.

Taşar Ç, Ekici S. Erkek Genital Sistem Anatomisi. İçinde: Ayhan A, Durukan T, Günalp S, Gürgan T, Önderoğlu LS, Yaralı H, Yüce K (editörler). *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*, 2. Baskı. Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2008:1589-1593.

The University of Western Australia.

<http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/corepages/malerepro/malerepro.htm>

09.09.2017.

Tomlinson MJ, Amissah-Arthur JB, Thompson KA, Kasraie JL, Bentick B. Prognostic indicators for intrauterine insemination (IUI): statistical model for IUI success. *Hum Reprod*, 1996; 11:1892–1896.

Tomlinson MJ, Kessopoulou E, Barratt CL. The diagnostic and prognostic value of traditional semen parameters. *J Androl*, 1993, 20:588-593.

Tomoyoshi T, Ishida A, Kim CJ. Use of Makler counting chamber in semen analysis. *Hinyokika Kyo-Acta Urologica Japonica*, 1998, 34:1931-1933.

Turek PJ. Infections, immunology and male infertility. *Infertil Reprod Med Clin North Am*, 1999, 10:435.

Weinbauer GF, Luetjens CM, Simoni M, Nieschlag E. Physiology of Testicular Function. In: Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S (eds). *Andrology*, 3rd ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010:11-59.

Weiske WH. Minimal invasive Vasektomie mittels Fulgurationstechnik. Erfahrungen bei 1000 Patienten in 12 Jahren. *Urologe*, 1994, 34:448-452.

Weiske WH, Salzler N, Schroeder-Printzen I, Weidner W. Clinical findings in congenital absence of the vasa deferentia. *Andrologia*. 2000, 32(1):13-18.

World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction, 1st edn. Singapore: Press Concern; 1980.

World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction, 2nd edn. Cambridge: Cambridge University Press;1987.

WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1992.

World Health Organization: WHO manual for standardized investigation and diagnosis of the infertile couple. Cambridge University Press, 1993:7.

World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction, 4th ed, Cambridge University Press, 1999.

World Health Organization. WHO Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertile Male. Cambridge University Press, 2000.

World Health Organisation. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th ed. Geneva: World Health Organization, 2010.

Yanagimachi R. Zona-free hamster eggs: their use in assessing fertilizing capacity and examining chromosomes of human spermatozoa. *Gamete Res*, 1984, 10:187.

Yoshida K, Kawano N, Yoshiike M, Yoshida M, Iwamoto T, Morisawa M. Physiological roles of semenogelin I and zinc in sperm motility and semen coagulation on ejaculation in humans. *Mol Human Reprod*, 2008, 14:151-156.

EK-1.ÖZGEÇMİŞ

| KİŞİSEL BİLGİLER | |
|--|--|
| Adı Soyadı | : Derya TANRIÖVER |
| Doğum tarihi | : 21.05.1987 |
| Doğum yeri | : Malatya |
| Medeni hali | : Evli |
| Uyruğu | : T.C. |
| Adres | : 9 Eylül Mahallesi, 9. Cadde, 12. Sokak, No:3805-B İZMİR/Menemen |
| Tel | : 0539 766 85 39 |
| Faks | : ----- |
| E-mail | : derya_erisik@hotmail.com |
| EĞİTİM | |
| Lise | : Mustafa Kemalpaşa Yabancı Dil Prog. Uy. Lise (2005) |
| Lisans | : Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (2005-2009) |
| Yüksek lisans | : Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı (2014- Devam) |
| YABANCI DİL BİLGİSİ | |
| İngilizce | : YÖKDİL:81.25, Mart 2017 |
| ÜYE OLUNAN MESLEKİ KURULUŞLAR | |
| | Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği, Klinik Embriyoloji Derneği |

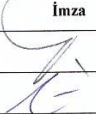
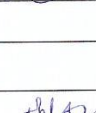
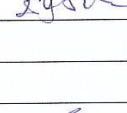

EK-2. ETİK KURUL ONAYI

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

| | | |
|----------------------|------------------|---|
| ETİK KURUL BİLGİLERİ | ETİK KURULUN ADI | BALIKESİR ÜNİV. TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU |
| | AÇIK ADRESİ | Çağış Yerleşkesi, Uşak yolu üzeri, 10145 BALIKESİR |
| | TELEFON | 0266 612 14 61/1122 |
| | FAKS | 0266 612 14 59 |
| | E-POSTA | etik.bautip@gmail.com |

| | | | |
|-------------------------------|---|--|--|
| ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI | Sperm Konsantrasyonunun Belirlenmesinde Makler Kamarası ve Modifiye Neubeur Lamı ile Yapılan Sayıların Tutarlılık Düzeyleri | | |
| BASVURU BİLGİLERİ | SORUMLU ARAŞTIRMACININ UNVANI/ADI/SOYADI | Yrd. Doç. Dr. Fatma Bahar SUNAY | |
| | SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI | Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı | |
| | SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ | Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi | |
| | DESTEKLEYİCİ | | |
| ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER | TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/> | ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/> | |

| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER | Belge Adı | | Açıklama |
|---|--|-------------------------------------|----------|
| | BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU | <input checked="" type="checkbox"/> | |
| | ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ | <input type="checkbox"/> | |
| | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ | <input type="checkbox"/> | |
| | YILLIK BİLDİRİM | <input type="checkbox"/> | |
| DİĞER: | <input type="checkbox"/> | | |
| KARAR BİLGİLERİ | Karar No:2016/107 | Tarih: 19/10/2016 | |
| | Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmann/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmann/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. | | |
| Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. | | | |

| Unvanı/Adı/Soyadı | Uzmanlık Alanı | Kurumu | Cinsiyet | | Araştırma ile ilişki | | Katılım * | | İmza |
|------------------------------|--------------------------|--|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---|
| | | | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Doç. Dr. Fuat EREL | Göğüs Hastalıkları | Balıkesir Üniversitesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |  |
| Doç. Dr. Gülten ERKEN | Fizyoloji | Balıkesir Üniversitesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |  |
| Doç. Dr. Esin SÖĞÜTLÜ SARI | Göz Hastalıkları | Balıkesir Üniversitesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | |
| Yrd. Doç. Dr. F. Bahar SUNAY | Histoloji ve Embriyoloji | Balıkesir Üniversitesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Yrd. Doç. Dr. Elif AKSÖZ | Tıbbi Farmakoloji | Balıkesir Üniversitesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |  |
| Uzm. Dr. Mehmet ÇALIŞKAN | Halk Sağlığı | Balıkesir KEAS Organize Sanayii | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | |
| Av. Mustafa Tuğrul MENÇE | Avukat | Serbest | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | |
| Ecz. Hüsnü KUNDAKÇI | Eczacı | BAÜ Sağlık Uyg. ve Araştırma Hastanesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |  |
| Serhat ALDEMİR | | BEST A.Ş. | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> |  |

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının:

Unvanı, Adı Soyadı: Doç. Dr. Fuat EREL

İmza:

EK-3.ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sperm Konsantrasyonunun Belirlenmesinde Makler Kamarası ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometresi ile Yapılan Sayımların Tutarlılık Düzeyleri

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ

Araştırma amacıyla yapılan bu çalışmaya davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

1) Çalışmanın amacı nedir?

Kısırlık görülme sıklığı giderek artan bir sağlık sorunudur. Erkeklerde kısırlığa yönelik en sık kullanılan tanı yöntemi spermiyogram testidir. Spermiyogram testinde hastadan elde edilen meni (cinsel salgı) içerisindeki üreme hücrelerinin miktarı incelenir. Bu incelemede avantajı ve dezavantajı olan farklı yöntemler kullanılabilir. Bu çalışmanın amacı meni içerisindeki sperm yoğunluğunu belirlemede en sık kullanılan iki farklı yöntemi karşılaştırmak ve sonuçları arasındaki uyumu incelemektir.

2) Katılma koşulları nedir?

Bu çalışmaya dahil edilmeniz için doktorunuzun onayı yeterlidir.

3) Nasıl bir uygulama yapılacaktır?

Normalde spermiyogram tetkikiniz için Androloji Laboratuvarına verdiğiniz menide gerekli incelemeler yapıldıktan sonra artan 2-4 ml hacimli meni tıbbi atık olarak çöpe atılmaktadır. Bu çalışmaya katılmayı kabul etmeniz durumunda çöpe atılan bu sıvının bir su damlası kadarlık miktarı üreme hücrelerinizin yoğunluğunu belirlemek için kullanılacaktır.

4) Sorumluluklarım nedir?

Araştırma ile ilgili olarak herhangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır.

5) Katılımcı sayısı nedir?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı yaklaşık 100'dür.

6) Katılımım ne kadar sürecektir?

Bu araştırma için katılımınız sadece örnek verme süreniz ile sınırlıdır.

Sperm Konsantrasyonunun Belirlenmesinde Makler Kamarası ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometresi ile Yapılan Sayımların Tutarlılık Düzeyleri

7) Çalışmaya katılma ile beklenen olası yarar nedir?

Çalışmaya katılmanız size doğrudan bir yarar sağlamayacaktır. Ancak bu çalışmadan elde edilecek sonuçların spermiyogram tetkiki istenen erkek hastalarda tahlilin daha doğru ve daha hızlı yapılmasını sağlama olasılığı bulunmaktadır.

8) Çalışmaya katılma ile beklenen olası riskler nelerdir?

Çalışmaya katılmaz durumunda sizi bekleyen olası bir risk bulunmamaktadır.

9) Hangi koşullarda araştırma dışı bırakılabilirim?

Araştırma dışı bırakılmanıza neden olacak herhangi bir durum yoktur.

10) Yeni bulgular

Araştırma sürecinde yapılan uygulamaya yönelik sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir.

11) Araştırma süresince çıkabilecek sorunlar için kimi aramalıyım?

Araştırma haklarınız veya araştırmayla ilgili herhangi bir soru için daha fazla bilgi temin edebilmeniz için **0505 6634287** numaralı telefonda **Dr. F. Bahar Sunay** ile günün 24 saatinde erişime geçebilirsiniz.

12) Çalışma kapsamındaki giderler karşılanacak mıdır?

Bu çalışma için gerekli tüm masraflar araştırmacılar tarafından karşılanacaktır. Çalışma için sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecektir.

13) Araştırmaya katılmayı kabul etmemem veya araştırmadan ayrılmam durumunda ne yapmam gerekir?

Araştırmaya katılmak tamamen **gönüllülük** esasına dayanmaktadır. Çalışmaya **katılmama** veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmadan **çıkma** hakkına sahipsiniz. Her iki durumda da bir ceza veya hakkınız olan yararların kaybı kesinlikle söz konusu olmayacaktır.

14) Katılmama ilişkin bilgiler konusunda gizlilik sağlanabilecek midir?

Size ait kim tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayımlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir. Ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurular ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Sperm Konsantrasyonunun Belirlenmesinde Makler Kamarası ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometresi ile Yapılan Sayımların Tutarlılık Düzeyleri

ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI

Yukarıda yer alan ve çalışmaya başlamadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 3 sayfalık metni okudum. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

"Sperm Konsantrasyonunun Belirlenmesinde Makler Kamarası ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometresi ile Yapılan Sayımların Tutarlılık Düzeyleri" başlıklı araştırma kapsamında kullanılan meni örneğimin

- () Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.
() Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

Gönüllünün (Kendi el yazısı ile)

Adı-Soyadı:

İmzası:

Adresi:

Telefon No, Faks No:

Tarih (gün/ay/yıl):/..../....

Açıklamaları Yapan Araştırmacının (Doktorun)

Adı-Soyadı:

İmzası:

Tarih (gün/ay/yıl):..../..../.....

Onay Alma İşlemine Başından Sonuna Kadar Tanıklık Eden Kuruluş Görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası:

Görevi:

Tarih (gün/ay/yıl):...../....

